



Class 615.05

Book Z48

Acc. 170195

PT1 U2

UNIVERSITY OF IOWA



3 1858 021 094 804

STATE UNIVERSITY OF IOWA LIBRARY
Zeitschrift

für

Immunitätsforschung und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von:

H. Apolant, Frankfurt a. M., V. Babes, Bukarest, O. Bail, Prag, E. F. Bashford, London, S. Belfanti, Mailand, A. Besredka, Paris, J. Bordet, Brüssel, A. Breinl, Liverpool, L. Brleger, Berlin, A. Calmette, Lille, A. Dieudonné, München, R. Doerr, Wien, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Heidelberg, P. Ehrlich, Frankfurt a. M., S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, G. Gaffky, Berlin, M. von Gruber, München, M. Hahn, München, A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, S. Kitasato, Tokio, R. Koch, Berlin, W. Kolle, Bern, W. Kruse, Königsberg i. Pr., K. Landsteiner, Wien, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, F. Loeffler, Greifswald, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, E. Metschnikoff, Paris, L. Michaelis, Berlin, R. Muir, Glasgow, C. Moreschi, Pavia, P. Th. Müller, Graz, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. Ostertag, Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, P. Römer, Marburg, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Berlin, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welchardt, Erlangen, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER
(Berlin.)

R. KRAUS
(Wien.)

H. SACHS
(Frankfurt a. M.)

P. UHLENHUTH
(Gr.-Lichterfelde-Berlin.)

Siebenter Band.

Mit 1 Tafel und 31 Kurven im Text.



Jena

Verlag von Gustav Fischer
1910

YITR3VIMU JIATA
AND TO
YHAGEL

615.05
Z4x
17
47

Alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1 und 2. (Ausgegeben am 22. August 1910.)

	Seite
Kling, Carl A. , Untersuchungen über die bakterientötenden Eigenschaften der weißen Blutkörperchen. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Karolinischen Instituts und der Bakteriologischen Abteilung der Staatsmedizinischen Anstalt, Stockholm (Vorsteher: Prof. Alfred Pettersson).] Mit 1 Tafel	1
Friedberger, E. , und Vallardi, Carlo , Ueber Anaphylaxie. VIII. Mitteilung. Die quantitativen Beziehungen bei der Anaphylatoxinbildung. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. Friedberger)]	94
Conradl, H. , Ueber sterilisierende Wirkung des Chloroforms im Tierkörper. (Ein Beitrag zur kausalen Therapie bei akuter und chronischer Typhusinfektion.) [Aus der Kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Neunkirchen]	158
Ritz, H. , Sublimat und Wassermannsche Reaktion. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. Dr. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	170
Metalnikoff, S. , Die schützende Rolle der Hoden und der Nebenhoden. [Biologisches Laboratorium zu St. Petersburg]	185
Lindemann , Beitrag zur Kenntnis der Auflösung von Tuberkelbacillen in Neurin. [Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte in Berlin]	191
Uhlenhuth, Paul , Bemerkung zu vorstehender Arbeit	196
Preti, L. , Ueber das Verhalten der anaphylaktischen Reaktionskörper gegen rote Blutkörperchen. [Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli)]	197

Petteri
 28. August 1910
 K. Kling

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Izar, G. , Viskositätserniedrigung durch Gelatine-Antiserum. [Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli)]	199
Biedl, A. , und Kraus, R. , Experimentelle Studien über Anaphylaxie. 4. Mitteilung: Zur Charakteristik des anaphylaktischen Shocks .	205

Heft 3. (Ausgegeben am 8. September 1910.)

Doerr, R. , und Moldovan, J. , Die Wirkung toxischer Normal- und Immunsera als anaphylaktische Reaktion. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien]	223
Hartoch, O. , und Ssirenskij, N. , Zur Lehre über die toxische Wirkung der Produkte der tryptischen Serumeiweißverdauung im Zusammenhang mit der Lehre von der Anaphylaxie. [Aus dem Kaiserlichen Institut für experimentelle Medizin zu St. Petersburg (Abteilungen von A. A. Wladimiroff und E. S. London)] . .	253
Busson, B. , Müller, P. Th. , und Rintelen, A. , Weitere Aviditätsstudien an Agglutininen. (VII.—IX. Mitteilung.) [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.] — I. Einleitung. Von Paul Th. Müller. — II. Ueber das Verhalten von Agglutinationstiter und Avidität in den späteren Stadien der Immunisierung und bei der Revaccination mit Typhusantigen. Mit 23 Kurven im Text. Von Bruno Busson und August Rintelen. — III. Ueber Aviditätsunterschiede bei subkutaner und intraperitonealer Immunisierung mit Typhusbacillen. Von August Rintelen	274
Galli-Valerio et Bornand, M. , Recherches sur les précipitines du miel. [Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne]	331
Sobernheim, G. , und Sellgmann, E. , Weitere Untersuchungen zur Biologie der Enteritisbakterien. [Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Proskauer)] . . .	342
Noguchi, Hideyo , Weitere Erfahrungen mit vereinfachter Methode der Serumdiagnose der Syphilis. [Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York]	353
Haendel und Steffenhagen, Karl , Auswertung von Anti-Eiweiß-Seris. [Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt]	373
Vallardi, Carlo , Ueber Tuberkulose-Anaphylaxie. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)] . .	381

Heft 4. (Ausgegeben am 21. September 1910.)

	Seite
Thomsen, Oluf , Die quantitative Ausführung der Wassermannschen Reaktion. [Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen)]	389
Biedl, A., und Kraus, R. , Ueber die Giftigkeit heterologer Sera und Kriterien der Anaphylaxie. [Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie und dem Staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf)]	408
Thomsen, Oluf, und Bjarnhjedinson, S. , Untersuchungen über Komplementbindung mit dem Serum Aussätziger. [Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. Th. Madsen)] . . .	414
Levy, E., und Aoki, K. , Ueber Schutzimpfung gegen Pneumokokken mit besonderer Berücksichtigung der kombiniert aktiv-passiven Immunisierungsmethode vermittelt sensibilisierter Vaccins . . .	435
Dunbar, W. P. , Ueber das serobiologische Verhalten der Geschlechtszellen. II. Mitteilung	454
Michaelis, Leonor, und Skwirsky, Peter , Die Empfindlichkeit des Komplementes gegen Fermente. [Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses „Am Urban“ in Berlin] . .	497
Onaka, M. , Weitere Studien über die Uebertragbarkeit der Tuberkulinüberempfindlichkeit. [Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorstand: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann)]	507

Heft 5. (Ausgegeben am 13. Oktober 1910.)

Rondoni, Pietro , Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung hämolytischer Sera. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	515
Walbum, L. E. , Die Einwirkung verschiedener Alkohole auf Antigene und ähnliche Körper. [Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen; Direktor: Dr. Th. Madsen.] Mit 1 Kurve im Text	544
Babes, V. , Ueber spezifische Reaktionen bei Lepra	578
Izar, G. , Ueber antigene Eigenschaften der Tumorlipode. [Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli)]	624
Altmann, K., und Rauth, A. , Experimentelle Studien über Erzeugung serologisch nachweisbarer Variationen beim Bacterium coli. [Aus dem städtischen hygienischen Institut zu Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. M. Neisser); Bakteriologische Abteilung (Abteilungs-vorsteher: Dr. Altmann)]	629

	Seite
Atkin, E. E. , The Behaviour of Megatheriolysin towards Heat. [From the Danish State Serum Institute.] With 3 Charts	656
Sleeswijk, J. G. , Anaphylaxie und Komplement. Ein Wort zur Richtigstellung und Kritik	661
Friedberger, E. , „Die Rolle des Komplementes bei der Anaphylaxie.“ (Kritik der „Richtigstellung“ des Herrn Sleeswijk.)	665

Heft 6. (Ausgegeben am 26. Oktober 1910.)

Liefmann, H. , und Cohn, M. , Die Wirkung des Komplementes auf die ambozeptorbeladenen Blutkörperchen. (Das Verhalten des Mittelstückes des Komplementes.) [Aus der bakteriologischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin; Leiter: Priv.-Doz. H. Liefmann]	669
Pettersson, Alfred , Bemerkungen in Bezug auf die Methodik zum Nachweis der Leukocytenbakterizidie. [Aus der Bakteriologischen Abteilung der medizinischen Staatsanstalt in Stockholm]	693
Satta, G. , und Donati, A. , Untersuchungen über die Komplementbindungsreaktion. [Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität in Turin (Direktor: Prof. B. Morpurgo)]	702
Spät, Wilhelm , Untersuchungen über die Abspaltung des bakteriolysischen Immunkörpers. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Prag]	712
Nishiura, Koichi , Ueber die Komplementbindungsreaktion bei Lepra. [Aus der dermato-urologischen Klinik der Kaiserl. Universität zu Kyoto, Japan (Direktor: Prof. Dr. U. Matsuura)]	721
Meyer, Kurt , Versuche über Komplementbindung bei Helminthiasis und über die chemische Natur des Bandwurmantigens. [Aus dem Serobakteriologischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses in Stettin]	732
Friedberger, Ernst , und Jerusalem, Ernst , Ueber Anaphylaxie. IX. Mitteilung: Das Verhalten des Anaphylatoxins gegenüber einigen physikalischen und chemischen Einflüssen. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger)]	748
Gruber, Georg B. , Peptolytische Fermente und Immunstoffe im Blut. [Aus der hygienischen Abteilung der K. B. Militärärztlichen Akademie in München. Vorstand: Stabsarzt und Dozent Dr. Georg Mayer.] Mit 4 Kurven im Text	762
Sachs, H. , und Bolkowska, G. , Beiträge zur Kenntnis der komplexen Konstitution der Komplemente. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich)]	778

Autorenverzeichnis.

- | | |
|---|---------------------------------|
| Altmann und Rauth 629. | Metalnikoff 185. |
| Atkin 656. | Meyer 732. |
| Babes 578. | Michaelis und Skwirsky 497. |
| Biedl und Kraus 205, 408. | Nishiura 721. |
| Busson, P. Th. Müller und Rintelen 274. | Noguchi 353. |
| Conradi 158. | Onaka 507. |
| Doerr und Moldovan 223. | Pettersson 693. |
| Dunbar 454. | Preti 197. |
| Friedberger 665. | Ritz 170. |
| Friedberger und Jerusalem 748. | Rondoni 515. |
| Friedberger und Vallardi 94. | Sachs und Bolkowska 778. |
| Galli-Valerio et Bornand 331. | Satta und Donati 702. |
| Gruber 762. | Sleeswijk 661. |
| Haendel und Steffenhagen 373. | Sobernheim und Seligmann 342. |
| Hartoch und Ssirenschij 253. | Spät 712. |
| Izar 199, 624. | Thomsen 389. |
| Kling 1. | Thomsen und Bjarnhjedinson 414. |
| Levy und Aoki 435. | Uhlenhuth 196. |
| Liefmann und Cohn 669. | Vallardi 381. |
| Lindemann 191. | Walbum 544. |
-

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originala. Bd. VII. No. 1/2.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Karolinischen Instituts und der Bakteriologischen Abteilung der Staatsmedizinischen Anstalt, Stockholm (Vorsteher: Prof. Alfred Pettersson).]

Untersuchungen über die bakterientötenden Eigenschaften der weißen Blutkörperchen.

Von **Carl A. Kling.**

Mit 1 Tafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. April 1910.)

Mehr als zwei Jahrzehnte schon dauert der Streit um **Metschnikoffs** Phagocytose- und **Buchners** Alexintheorie, und noch immer wird er auf beiden Seiten mit derselben Schärfe wie früher geführt. Wer sich etwas eingehender mit der Immunitätsforschung beschäftigt und dabei versucht hat, sich eine objektive Auffassung zu verschaffen, kann sich weder mit der einen noch der anderen dieser Theorien zufriedengeben; keine von ihnen vermag allein die verwickelten Immunitätsprobleme völlig zu erklären.

Mit einer gewissen Befriedigung begrüßt man daher das Hervortreten einer Auffassung, welche die beiden streitenden Ansichten in sich aufnimmt, eine vermittelnde Anschauung, die den beiden Theorien bis zu einem gewissen Grade Recht gibt, die den Leukocyten in vielen Fällen eine aktive Rolle zuerkennt, andererseits aber auch zugibt, daß es gewisse Infektionen gibt, wo die Bakterizidie unter Einwirkung der Substanzen der Körperflüssigkeiten vor sich geht, und wo die Leukocyten in dieser Hinsicht demnach eine untergeordnete Rolle spielen.

Wenn auch diese Ansicht, die sich letztthin auf **Schattenfrohs** Beobachtung gründet, daß die bakterientötenden Stoffe

der Leukocyten und die Serumalexine sich in mehreren Hinsichten verschieden verhalten und durch die Untersuchungen der letzteren Jahre von Däubler, Landsteiner, Gruber, Pettersson, Lambotte und Stiennon, Korschun, Schneider, Weil u. a. weitere Stützen erhalten hat, große Wahrscheinlichkeit für sich zu haben scheint, so befindet sie sich doch noch auf dem Stadium der Hypothese. Ob die bakteriziden Leukocytensubstanzen und die Serumalexine verschiedene Körper sind, auf welcher Annahme die eben genannte Ansicht basiert, ist noch eine umstrittene Frage.

Um hierin zu einem richtigen Urteil gelangen zu können, muß man die Eigenschaften dieser Körper gründlich kennen. Die Serumalexine sind bereits ziemlich gut studiert, was dagegen nicht mit den bakterientötenden Leukocytenstoffen der Fall ist. Es ist meine Absicht gewesen, hier einen kleinen Beitrag zur Kenntnis dieser Substanzen zu liefern.

Das Studium der bakteriziden Wirkung der weißen Blutkörperchen begann, wie bekannt, gleich nach der Veröffentlichung der Arbeiten von Buchner über die Serumalexine. Die Hoffnung, daß die Leukocyten sich als die Quelle der Alexine zeigen würden, lag ja sehr nahe. Bakterizide Wirkung dieser Zellen ließ sich auch ohne Schwierigkeit feststellen. Bald stellten sich jedoch große Bedenken gegen die Herleitung der Serum-bakteriolyse aus den Leukocyten ein. Bei den bakteriziden Leukocytenstoffen wurden nämlich Eigenschaften angetroffen, die mit denen der Serumalexine nicht übereinstimmten. Schattenfroh, der erste, der den völlig exakten Beweis erbrachte, daß die von Serum vollständig freien Leukocyten bakterientötende Stoffe enthalten, nahm schon bei ihnen solche Eigenschaften wahr. Er beobachtete, daß das Leukocytenextrakt nach einer Erhitzung $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° , bei welcher Temperatur die Serumalexine bereits zerstört sind, vollständig ungeschädigt war: erst eine $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung auf $80-85^{\circ}$ konnte es inaktivieren. Ferner fand er, daß die Wirkung der Leukocytenstoffe vom Salzgehalt der Flüssigkeit unabhängig ist, und daß die Leukocytenextrakte einer hämolytischen Wirkung entbehren. Dies alles sowie die Tatsache, daß öfters jede Uebereinstimmung in bezug auf An- bzw. Abwesenheit bakterizider Wirkung zwischen Serum und Leukocyten fehlt, ließ Schattenfroh daran zweifeln, ob die bakteriziden Stoffe der Leukocytenextrakte wirkliche Serumalexine seien. Däubler u. a. kamen zu der Ansicht, daß die betreffenden Substanzen verschiedene Körper seien.

Buchner nahm an, daß die bakteriziden Substanzen durch Sekretion der Leukocyten, Metschnikoff, daß sie durch den Zerfall derselben in die Körperflüssigkeit als Serumalexine hineingelangen. Gegen beide Ansichten wurden schwere Einwände erhoben. Denys und seine Mitarbeiter wiesen nach, daß die Erhöhung der bakteriziden Wirkung auf gewisse Bakterien, welche die Leukocyten beim Zusatz zum Serum hervorrufen, an die Zellen selbst geknüpft ist, so daß das Serum nach ihrer Entfernung ebenso unwirksam ist wie vorher. Pettersson sowie mehrere andere fanden im Gegensatz zu Gengou, daß das Plasma dieselbe bakterientötende Wirkung wie Serum entfaltet. Er konnte weiter zu gleicher Zeit wie Lambotte und Stiennon feststellen, daß die Leukocyten keineswegs so labile Zellen sind, daß sie schon nach geringen physikalischen Einwirkungen zugrunde gehen, wie Metschnikoff es annimmt.

Die Eigenschaften der bakterienfeindlichen Substanzen der Leukocyten sind in den letzten Jahren eingehend von Pettersson studiert worden. Er fand, daß die keimfeindlichen Stoffe der Leukocyten erst bei der Zerstörung der Zellen von diesen an die umgebende Flüssigkeit abgegeben werden. Sie verhalten sich in dieser Hinsicht wie Endoenzyme und Endotoxine. Er nennt daher die auf diese Weise aus den Leukocyten extrahierten Stoffe Endolysine (1907).

Die Endolysine, die also nicht als Sekretionsprodukte der Leukocyten betrachtet werden dürfen, unterscheiden sich von den Serumalexinen in mehreren Hinsichten. Sie sind im allgemeinen resistenter gegen Erhitzung. Während die Alexine oft bei ungefähr $+ 55^{\circ} \text{C}$ zerstört werden und wohl selten eine höhere Temperatur als 60° vertragen, kann man Endolysine finden, die eine Erhitzung bis auf $+ 85^{\circ} \text{C}$ vertragen, ehe sie inaktiviert werden. Sie zeichnen sich durch eine langsamere Wirkung aus als die Alexine. Diese letzteren töten oft momentan, erstere dagegen erst nach mehreren Stunden; oft kann es einen ganzen Tag dauern, bis die Bakterizidie das Maximum erreicht hat. Gewisse Endolysine werden von dem Pukalschen Filter zurückgehalten, die Serumalexine gehen hindurch. Die beiden Substanzen finden sich nicht immer bei derselben Tierart. Die Endolysine sind wie die Serumalexine komplexe Körper und können gleich diesen in gewissen Fällen aus ihrer Lösung mittelst Alkohol unverändert ausgefällt werden.

Bevor ich meine Darstellung beginne, will ich die Gelegenheit benutzen, Herrn Prof. Alfred Pettersson meinen wärmsten Dank für alle Unterstützung und für alle die wertvollen Ratschläge auszusprechen, die er mir im Laufe der Arbeit gegeben hat.

1 *

I. Technik.

Um ein leukocytenreiches Exsudat zu erhalten, hat man sich verschiedener, auf die weißen Blutkörperchen positiv chemotaktisch wirkender Stoffe bedient.

Für meine eigenen Untersuchungen habe ich die Methode verfolgt, die im hiesigen Laboratorium angewandt worden ist. Man mischt Aleuronat mit etwas Weizen- und Kartoffelmehl, rührt es in gewöhnlicher Bouillon aus, kocht es auf und verdünnt es, wenn nötig, bis man einen dünnflüssigen Brei erhält. Die Masse wird im Autoklaven 15 Minuten lang sterilisiert. Hiervon werden in die Bauchhöhle bei größeren Versuchstieren, wie Kaninchen und Katze, ungefähr 10 ccm, bei Meer-schweinchen etwas weniger injiziert.

Nach 12—24 Stunden wird eine ähnliche Injektion von neuem vorgenommen und nach weiteren 12 Stunden kann man gewöhnlich gut das Exsudat entnehmen.

Das Blut wird in gewöhnlicher Weise aus der Arteria carotis zur Gewinnung von Serum entnommen, die Bauchhöhle wird eröffnet und mit physiologischer Kochsalzlösung, die mit 1 Prom. Natriumoxalat oder 4 Prom. Citrat versetzt ist, ausgespült. Das mit der Spülflüssigkeit verdünnte Exsudat wird mittels Pipette aufgesogen und zentrifugiert. Eventuell mitgehende Aleuronatklumpen werden durch Sedimentierung oder kurzdauernde Zentrifugierung entfernt. Ist nun die Injektion gut gelungen, so bildet der Bodensatz eine grauweiße Masse von Leukocyten. Die Flüssigkeit wird abgegossen und die Leukocyten aufs neue in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zentrifugiert. Dieses Verfahren wird noch einigemal wiederholt. Man darf annehmen, daß man auf diese Weise die Leukocyten von Serumsstoffen befreit erhalten hat. Schattenfroh berechnete, daß durch ein derartiges Waschen der Verdünnungskoeffizient der ursprünglichen Flüssigkeit 0,00001 betrug.

Beim Kaninchen ist es verhältnismäßig leicht, auf diese Weise von roten Blutkörperchen freie Leukocyten zu erhalten. Doch geschieht es nicht selten, daß das Exsudat blutig ist.

Es ist dies ein schlechtes Zeichen, und man darf kein wirksames Extrakt erwarten. Beim Meerschweinchen und der Katze, wo es öfters geschieht, daß das Exsudat mit Blut gemischt ist, empfiehlt es sich, zur Injektion Mellins food, wie Korschun es getan, oder Weizen-Kartoffelmehlkleister anzuwenden.

Die Exsudatzellen, die man mittels der soeben angegebenen Methode erhält, bestehen fast ausschließlich aus polymorphkernigen Leukocyten. An dem nach May-Grünwald gefärbten Präparat treten sie mit zahlreichen größeren und kleineren Körnern im Protoplasma hervor, von denen die meisten rot, einige aber auch violett und blau sind. Diese Zellen sind demnach, was man beim Kaninchen und Meerschweinchen pseudoeosinophile oder amphophile Leukocyten genannt hat, und sie entsprechen der geläufigen Anschauung nach den neutrophilen Eiterzellen beim Menschen. Außerdem sieht man eine geringe Anzahl großer mononukleärer Zellen mit einem reichlichen, dem Aussehen nach nicht körnigen Protoplasma, sowie hier und da einige Lymphocyten.

Bei der Untersuchung der bakteriziden Wirkung der Leukocyten im Reagenzröhrchen ist die gewöhnliche Plattenzählmethode angewandt worden.

II. Wie erhält man die bakteriziden Substanzen in Lösung?

Die Methoden, die man bisher angewandt hat, um die bakteriziden Leukocytenstoffe in Lösung zu bekommen, sind teils solche gewesen, wo man die Zellen zu zerstören beabsichtigt hat, teils solche, wo man gewünscht hat, die Zellen am Leben zu erhalten, um damit zu beweisen, daß sie bakterientötende Stoffe sezernieren. Zu der ersteren Art gehören die Buchnersche Methode, die Bails mit Leukozidin und Van de Veldes mit destilliertem Wasser u. a., zu der letzteren die Verfahren, die von Trommsdorff, Laschtschenko, Gruber und Futaki, Schneider u. a. angewandt worden sind, die sich indifferenten Flüssigkeiten, wie physiologischer Kochsalzlösung und verschiedener Arten von Sera, bedient haben.

Ich will im folgenden die beiden prinzipiell verschiedenen Extraktionsmethoden unter möglichst gleichartigen experimentellen Anordnungen vergleichen. Wenn auch ein derartiger Vergleich uns keine endgültige Antwort auf die Frage geben kann, ob die bakteriziden Substanzen als Sekretions- oder als bloße Extraktionsprodukte zu betrachten sind, so kann er uns doch zu einer gewissen Vorstellung davon führen, wie fest diese Stoffe an die Zellen gebunden sind.

Versuch I.

2 g Kaninchenleukocyten, in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, wurden in 1 ccm gewöhnlicher Bouillon aufgeschwemmt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+37^{\circ}\text{C}$ digeriert. Danach wurde die Leukocytenaufschwemmung zentrifugiert, bis 1 ccm klare Flüssigkeit (Bouillonleukocytenextrakt I) abpipettiert werden konnte. Der Rückstand der Leukocyten wurde wiederum in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+50^{\circ}\text{C}$ digeriert (Bouillonleukocytenextrakt II). Zentrifugierung und Abpipettierung. Der Rest der Leukocyten wurde in 1 ccm Bouillon durch mehrmaliges Einfrieren in Kältemischung und Auftauen bei $45-50^{\circ}\text{C}$ extrahiert (Bouillonleukocytenextrakt III).

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 19 Std.
1 ccm Bouillon	373 (Mittel)	$> 25\,000$	Zunahme
1 „ Bouillonleukocytenextrakt I		$> 25\,000$	Zunahme
1 „ „ II		68	763
1 „ „ III		0	0

Wiederholte Versuche ergaben dasselbe Resultat. Eine gewöhnliche Digestion bei $+37^{\circ}\text{C}$ während einer halben Stunde ist nicht hinreichend, um aus den Leukocyten bakterizide Substanzen auszulösen. Die Subtilisbacillen vermehren sich in einer derartigen Flüssigkeit ebenso schnell wie in gewöhnlicher Bouillon. Werden dagegen die Leukocyten einer Temperatur von $+50^{\circ}\text{C}$ $\frac{1}{2}$ Stunde lang ausgesetzt, so hat dadurch die Digestionsflüssigkeit ein bakterientötendes Vermögen, wenn auch in keinem höheren Grade, erhalten. Offenbar hat hier die hohe Temperatur die Leukocyten geschädigt, und ihre Substanzen sind in Lösung gegangen. Am allerstärksten ist, wie wir gesehen, der Effekt, wenn man die Leukocyten wiederholtem Einfrieren und Auftauen unterzieht; das Extrakt III

ist in dem Grade bakterientötend, daß die Flüssigkeit nach 5 Stunden völlig steril geworden ist. Aus diesen Versuchen hat sich also ergeben, daß, je intensiver die Schädigung ist, der die Leukocyten ausgesetzt werden, um so kräftiger bakterientötend dadurch das Extrakt wird.

Im folgenden Versuch sind Schneiders Digestionsflüssigkeiten, teils physiologische Kochsalzlösung, teils 5-proz. Typhusimmunserum und 5-proz. inaktiviertes Normalserum vom Kaninchen, angewandt worden. Die Kochsalzlösung wurde mit dem fünften Teil Bouillon versetzt, um sie mit für die Bakterien nötigen Nährstoffen zu versehen.

Versuch II.

1 g Kaninchenleukocyten werden in 2 ccm (mit Bouillon versetzter) physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+38^{\circ}\text{C}$ digeriert. Die Leukocyten wurden danach abzentrifugiert (Kochsalzdigest), und der Leukocytenrückstand wurde in 2 ccm Kochsalzlösung auf gewöhnliche Weise durch Einfrieren und Auftauen extrahiert (Gefrierextrakt). 1 g Kaninchenleukocyten wurden in 2 ccm ($\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+65^{\circ}\text{C}$) inaktiviertem 5-proz. Typhusimmunserum (mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt) $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+38^{\circ}\text{C}$ digeriert, worauf die Leukocyten abzentrifugiert wurden (Immunserumdigest). Dieselbe Menge Kaninchenleukocyten wurde in ähnlicher Weise in ($\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+65^{\circ}\text{C}$) inaktiviertem 5-proz. Kaninchennormalserum behandelt (Normalserumdigest).

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	So- fort	Nach 5 Std.	Nach 19 Std.
1 ccm Kochsalzbouillon		> 25 000	Zunahme
1 „ Kochsalzdigest		> 25 000	„
1 „ Kochsalzdigest, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56°C		> 25 000	„
1 „ Gefrierextrakt		7	23
1 „ Gefrierextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56°C		35	4
1 „ 5-proz. Immunser., erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65°C		> 25 000	Zunahme
1 „ Immunserumdigest		> 25 000	„
1 „ Immunserumdigest, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56°C		> 25 000	„
1 „ 5-proz. Normalser., erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65°C		> 25 000	„
1 „ Normalserumdigest		> 25 000	„
1 „ Normalserumdigest, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56°C		> 25 000	„

Im vorstehenden Versuch ist demnach das Gefrierextrakt die einzige Flüssigkeit, die bakterientötendes Vermögen be-

sessen hat, während in allen übrigen die Subtilisbacillen sich ungehindert vermehrt haben. Wir sehen auch, daß das Gefrierextrakt seine Wirkung behalten hat, trotz halbstündiger Erhitzung auf 56° C. Ich werde auf diesen Umstand noch weiter unten zurückkommen.

Die für die Leukocyten indifferenten Flüssigkeiten, die Schneider bei seinen Digestionsversuchen angewendet hat, physiologische Kochsalzlösung und 5-proz. Serum, haben also in diesem Versuch keine gegen den *Bacillus subtilis* wirksame Substanzen aus den Leukocyten auszulösen vermocht. Schneider hat hauptsächlich den *Typhusbacillus* angewendet, und es schien mir daher interessant, die verschiedenen Extraktionsmethoden auch in bezug auf diese Mikrobe zu vergleichen.

Versuch III.

1 g Kaninchenleukocyten wurden $\frac{1}{4}$ Stunde lang bei + 38° C in 1 ccm (mit Bouillon versetzter) Kochsalzlösung digeriert. Das Kochsalzdigest wurde durch Zentrifugierung von den Leukocyten getrennt, die danach in Kochsalzlösung durch Einfrieren und Auftauen extrahiert wurden. Dieselbe Menge Kaninchenleukocyten wurde in 1 ccm inaktiviertem 5-proz. Typhusimmunserum digeriert. Abzentrifugierung der Leukocyten.

Einsaat: *Bacillus typhi*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.
1 ccm Kochsalzbouillon		44 520
1 „ Immunserum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf + 65° C		26 902
1 „ Immunserumdigest		33 771
1 „ Kochsalzdigest		31 800
1 „ Gefrierextrakt	3052 (Mittel)	400

Auch gegen den *Bacillus typhi* war, wenigstens bei der hier angewandten Einsaat, das Kochsalzlösungsdigest und das 5-proz. Immunserumdigest unwirksam, während das Gefrierextrakt eine deutliche, wenn auch nicht sehr starke bakterizide Kraft zeigt. Während 4 Stunden sind jedoch die Bakterien in ihrem Wachstum zurückgehalten und ein nicht unbeträchtlicher Teil von ihnen auch von dieser Flüssigkeit getötet worden, während in den übrigen Röhren eine bedeutende Vermehrung stattgefunden hat.

Mit der Schneiderschen Extraktionsmethode ist es mir demnach nicht gelungen, bakterizide Extrakte herzustellen, die gegen *Bacillus subtilis* oder *Bacillus typhi* wirksam wären. Pettersson hat ähnliche Versuche auch mit dem Milzbrandbacillus angestellt, aber mit dem gleichen negativen Ergebnis. Worauf die Differenz unserer Resultate beruht, läßt sich schwer sagen. Man könnte einwenden, daß die Einsaat, die in vorstehendem Versuch mit dem Typhusbacillus angewendet worden ist, an Menge die von Schneider benutzte bedeutend übertrifft, daß sie zu groß gewesen ist, als daß eine Wirkung der Digestionsflüssigkeiten sich hätte zeigen können. In meinem Versuch ist indessen eine größere Menge Leukocyten zur Extraktbereitung angewandt worden, und in Anbetracht dessen dürfte das Verhältnis zwischen Bakterieneinsaat und Leukocytenmenge nicht allzu verschieden gewesen sein. Pettersson hat auch bei seinen Versuchen die Einsaat so klein wie möglich bemessen, dessen ungeachtet fiel aber der Versuch negativ aus. Eine Erklärung kann ja die sein, daß die Leukocyten nicht in derselben Weise auf verschiedene Typhusbacillenstämme wirken. Auch Gruber und Futaki fanden, daß Digestion von Kaninchenleukocyten mit Kochsalzlösung selten gegen den Anthraxbacillus wirksame Extrakte lieferte. Bei 5 Versuchen war das Extrakt in keinem kräftig, in einem schwach und in 4 gar nicht wirksam.

Wir haben nun oben gesehen, daß eine kräftige Zerstörung der Leukocyten die bakteriziden Substanzen auszulösen vermag. Eine solche Schädigung haben wir durch ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen nach der zuerst von Buchner angegebenen Methode oder durch eine bloße Erhitzung der Leukocyten auf 50° C während einer halben Stunde herbeigeführt. Von Interesse wäre es ja auch, zu untersuchen, ob man nicht durch chemische Agentien diese Stoffe herauslösen könnte, ohne sie zu schädigen. Ich habe bereits oben erwähnt, daß Bail Versuche mit Leukozidin und Van de Velde mit destilliertem Wasser angestellt haben, und daß diese Versuche auch gelungen sind. Ich dachte zuerst an unsere gewöhnlichen Extraktionsmittel, Salzsäure und Natronlauge, die ja auch zur Verwendung gekommen sind, um mehrere der gewöhnlichen Enzyme zu erhalten, z. B. bei

der Darstellung von Pepsin oder der Bereitung von Pankreas-extrakt. Daß nur eine starke Verdünnung der genannten Stoffe geeignet sein würde, war ja a priori anzunehmen.

Versuch IV.

1 g Kaninchenleukocyten wurden gewaschen, in 1 ccm dest. Wasser und 0,5 ccm n_{10} Salzsäure aufgeschwemmt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 37°C digeriert. Die Leukocyten wurden abzentrifugiert und das klare saure Extrakt mit n_{10} Natronlauge schwach alkalisch gemacht. Ein paar Tropfen Bouillon wurden hinzugesetzt. 1 ccm des Extraktes wurde $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 75°C erhitzt.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 3 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Bouillon	1286 (Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 „ Salzsäureleukocytenextrakt		636	120
1 „ Salzsäureleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75°C		> 25 000	Zunahme

Versuch V.

2 g Kaninchenleukocyten. Verfahren wie im vorigen Versuch.

Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 13 Std.	Nach 22 Std.
1 ccm Bouillon	25 (Mittel)	11 448	22 896
1 „ Salzsäureleukocytenextrakt		1	0
1 „ Salzsäureleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75°C		608	13 737

Versuch VI.

2 g Kaninchenleukocyten. Verfahren wie oben.

Einsaat: *Bacillus typhi*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.
1 ccm Kochsalzbouillon	2607 (Mittel)	38 160
1 „ Salzsäureleukocytenextrakt		300
1 „ Salzsäureleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75°C		21 178

Die drei obigen Versuche zeigen also, daß man mit einer Salzsäurelösung in einer Verdünnung von ungefähr 1,2 Prom. aus den Leukocyten bakterientötende Stoffe auslösen kann. Daß die bakterizide Wirkung durch einen Stoff bedingt sein muß, der eine halbstündige Erhitzung auf 75°C nicht ver-

trägt, sehen wir gleichfalls. Wir können außerdem aus dem Versuch den Schluß ziehen, daß eine Salzsäurelösung von dem oben erwähnten Verdünnungsgrade die bakteriziden Substanzen nicht wesentlich schädigt. Die Wirkung des Salzsäureextraktes auf den Typhusbacillus ist ja nicht sehr stark, aber doch völlig deutlich. Bei meinen Versuchen mit Kaninchenleukocyten und dem Typhusbacillus habe ich im allgemeinen den Eindruck erhalten, daß diese Leukocyten nicht besonders reich an typhusbacillentötenden Substanzen sind.

Auch mit Natronlauge von ungefähr demselben Verdünnungsgrade (1,3 Prom.) kann man, wie die folgenden Versuche zeigen, die bakteriziden Substanzen aus den Leukocyten extrahieren.

Versuch VII.

1 g Kaninchenleukocyten wurde in einer Mischung von 0,5 ccm n_{10} Natronlauge und 1 ccm destilliertem Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei $+ 37^{\circ} \text{C}$ digeriert. Danach wurde zu der gallertigen alkalischen Leukocytenemulsion 0,5 ccm n_{10} Salzsäure hinzugesetzt, wonach die Reaktion noch schwach alkalisch war. Darauf wurden die Leukocyten durch Zentrifugierung von dem Extrakt getrennt. Einige Tropfen Bouillon wurden hinzugesetzt.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 3 Stunden	Nach 18 Stunden
1 ccm Bouillon	1286 (Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 „ Natronlaugeleukocytenextrakt		41	112
1 „ Natronlaugeleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde auf 75°C		> 25 000	Zunahme

Versuch VIII.

2 g Kaninchenleukocyten. Die gleiche Versuchsanordnung wie vorher.

Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 13 Stunden	Nach 22 Stunden
1 ccm Bouillon	25 (Mittel)	11 448	19 080
1 „ Natronlaugeleukocytenextrakt		2	0
1 „ Natronlaugeleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde auf 75°C		2 862	6 868

Versuch IX.

2 g Kaninchenleukocyten. Die gleiche Versuchsanordnung.

Einsaat: *Bacillus typhi*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 1/2 Stunden	Nach 10 Stunden
1 ccm Kochsalzbouillon (0,8 + 0,2)		1590	38 160
1 „ Natronlaugeleukocytenextrakt	840	600	320
1 „ Natronlaugeleukocytenextrakt, er- hitzt 1/2 Stunde auf 75° C	(Mittel)	1353	31 800

Nachdem ich diese Versuche abgeschlossen, fand ich in der von Schneider im vorigen Jahr veröffentlichten Arbeit über den vorliegenden Gegenstand, daß er die Einwirkung von Säure und Alkali auf die Leukocytenstoffe geprüft hat und dabei zu dem Ergebnis gekommen ist, daß eine schwache Weinsäurelösung (0,04 ccm 1-proz. Weinsäure auf 1 ccm) die bakteriolytische Kraft des Leukocytendigests nicht herabsetzte, sondern vielmehr verstärkte. Natronlauge dagegen, auch in kleinen Dosen, übte eine schädigende Einwirkung auf die Leukocytenstoffe aus. Seine Ergebnisse betreffs Säuren stehen demnach in Uebereinstimmung mit meinen eigenen Versuchsergebnissen mit schwacher Salzsäurelösung. Was dagegen die Einwirkung der Natronlauge auf die Leukocytenstoffe betrifft, so scheinen allerdings meine Versuche denen Schneiders zu widersprechen. Die Versuche VII, VIII und IX zeigen uns ja, daß auch die Natronlaugenextrakte eine gute bakterizide Kraft besitzen. Indessen schließen ja diese Resultate nicht die Möglichkeit aus, daß die bakteriziden Stoffe der Leukocyten durch die Alkalibehandlung abgeschwächt worden sind.

Die eben angeführten Versuche haben also ergeben:

daß eine Digestion in Bouillon bei + 37° C, in physiologischer Kochsalzlösung, 5-proz. inaktiviertem Typhusimmunserum oder in 5-proz. inaktiviertem Normalserum bei + 38° C während einer halben Stunde nicht vermocht hat, aus den Leukocyten die gegen *Bacillus subtilis* und *typhi* wirksamen, bakterientötenden Substanzen auszulösen, wenigstens nicht in genügender Menge, um eine merkbare bakterizide Wirkung hervorzubringen;

daß dagegen kräftige bakterizide Extrakte erhalten wurden:

wenn die Leukocyten bei $+50^{\circ}\text{C}$ eine halbe Stunde lang digeriert wurden;

wenn die Leukocyten wiederholtem Einfrieren und kurzem Auftauen bei 50°C unterzogen wurden;

wenn die Leukocyten eine halbe Stunde lang bei $+37^{\circ}\text{C}$ in einer 1,2-prom. Salzsäurelösung oder 1,3-prom. Natronlauge Lösung digeriert wurden.

Die Leukocyten müssen offenbar, diesen Ergebnissen nach zu urteilen, einer eingreifenden Schädigung ausgesetzt werden, damit sie ihre bakteriziden Produkte, wenigstens in größerer Menge, abgeben sollen. Es läßt sich daher die Frage erheben, ob nicht Trommsdorff, Laschtschenko, Gruber und Futaki und nun zuletzt Schneider in ihren wirksamen Digesten mit sogenannten indifferenten Flüssigkeiten es mit Zerfallsprodukten der Leukocyten und nicht Sekretionsprodukten zu tun gehabt haben. Schneider, wie vor ihm Lazar, hat geprüft, wieviel Prozent der Leukocyten nach der Digestion nicht phagocytierten. Er fand dabei bei Digestion mit 5-proz. Serum, daß nach 10 Minuten Behandlung 16 bis 18 Proz. nicht phagocytierten, nach 20 Minuten 26 Proz., nach 1 Stunde 37 Proz., nach 2 Stunden 90 Proz. Da das 20-Minuten-Digest ebenso kräftig war wie das 2-Stunden-Digest, so zieht Schneider den Schluß, daß das bakterizide Vermögen des Extraktes nicht durch die Menge abgetöteter Zellen bedingt wird. In Schneiders Versuchen war indessen tatsächlich ein beträchtlicher Teil der Zellen wirklich durch die Digestion geschädigt worden, und die Möglichkeit liegt also immerhin vor, daß die bakteriziden Substanzen von den abgetöteten Leukocyten und nicht von den überlebenden herstammten.

Die bakteriziden Substanzen in den Leukocyten sind offenbar intim mit dem Zellprotoplasma verbunden, und wahrscheinlich ist es daher, daß sie nicht intra vitam von den unveränderten Zellen abgegeben werden. Es liegt ja nahe, sich zu denken, daß diese Stoffe es sind, die nach der Aufnahme der Bakterien in die Leukocyten in Wirksamkeit treten. Die Bezeichnung „Endolysine“, wie Pettersson diese Substanzen nennt, erscheint mir daher sehr treffend, und ich werde im folgenden mich ihrer bedienen. Daß diese Sub-

stanzen auch extracellulär ihre Bedeutung haben können, ist ja nicht undenkbar. Wir wissen ja, daß in älteren Abszessen die Leukocyten in starkem Zerfall begriffen sind. Ihre bakteriziden Stoffe müssen daher hier in Lösung vorhanden sein, und befinden sie sich noch in wirksamem Zustande, so üben sie wohl auch ihre Wirkung auf die extracellulär liegenden Bakterien aus, wie auch aus den Versuchen Bordets hervorzugehen scheint.

III. Studien über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Endolysine.

A. Resistenz gegen Erwärmung und Eintrocknung.

Schattenfrohs Beobachtung, daß Leukocytenextrakte nicht wie Serum ihre bakterizide Eigenschaft nach Erwärmung auf $+56^{\circ}\text{C}$ verlieren, sondern erst bei einer höheren Temperatur, in gewissen Fällen erst bei $+80-85^{\circ}\text{C}$, ist von der Mehrzahl der Forscher, die sich in den letzten Jahren mit dem Studium der bakterientötenden Substanzen der Leukocyten beschäftigt haben, bestätigt worden. Pettersson, der dieser Frage besondere Aufmerksamkeit geschenkt hat, betont auch mit Schärfe die hohe Wärmeresistenz der Endolysine im Unterschied von den Serumbakteriolysinen.

Die drei folgenden Versuche mit *Bacillus subtilis* demonstrieren diese Eigenschaft der Endolysine.

Versuch X.

Normalserum vom Kaninchen. Von 1,6 g Kaninchenleukocyten wurden 4 ccm Bouillonextrakt durch Einfrieren und Auftauen bereitet. Das Serum und das Leukocytenextrakt wurden $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf die unten angegebenen Wärmegrade erhitzt.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Stunden	Nach 22 Stunden
1 ccm Serum		8	152
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 60°C		1 488	> 25 000
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65°C		> 25 000	Zunahme
1 „ Bouillon		> 25 000	Zunahme
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		1	0
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60°C	674 (Mittel)	32	1
1 „ dgl., erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65°C		22	1
1 „ dgl., erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75°C		> 25 000	Zunahme

Dieses Experiment zeigt uns zunächst, daß beim Kaninchen sowohl das Serum- wie das Bouillonleukocytenextrakt das Vermögen besitzt, den *Bacillus subtilis* zu töten. Das Kaninchen bietet demnach besonders günstige Verhältnisse für einen Vergleich zwischen den bakterientötenden Substanzen im Serum und im Leukocytenextrakt dar. Ihr verschiedenes Verhalten bei Erhitzung tritt hier mit großer Deutlichkeit hervor. Eine halbstündige Erhitzung des Serums auf 60° C hat diese bakterienfeindlichen Stoffe bereits beträchtlich geschädigt. Völlig inaktiviert ist es jedoch noch nicht; eine Hemmung im Wachstum der Bakterien macht sich noch nach 6 Stunden geltend, nach einer halbstündigen Erhitzung auf 65° C ist aber die Inaktivierung vollständig. Das Leukocytenextrakt dagegen ist nach einer Erhitzung auf 65° C genau so wirksam wie das nicht erhitzte. Erst bei + 75° erhalten wir eine Inaktivierung des Leukocytenextrakts.

Versuch XI.

Normalserum vom Meerschweinchen. 1,5 g Meerschweinchenleukocyten wurden in 4 ccm Bouillon durch Einfrieren und Auftauen extrahiert.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 6 Std.
1 ccm Serum		1907 (Mittel)	> 25 000
1 „ Serum, erhitzt 1/2 Std. auf 60°			> 25 000
1 „ Bouillon			> 25 000
1 „ Bouillonleukocytenextrakt			150
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, erhitzt 1/2 Std. auf 60° C			568
1 „ „ „ „ „ 70° C			2 607
1 „ „ „ „ „ 75° C			> 25 000

Auch die in den Meerschweinchenleukocyten vorkommenden Endolysine zeigen dieselbe Eigenschaft. Nach Erhitzung auf 60° C sind sie noch ungeschädigt, und sogar bei 70° C macht sich noch ihre Wirkung geltend, wenn sie auch etwas abgeschwächt ist. Das Experiment zeigt uns noch ein weiteres interessantes Verhältnis. Wir sehen nämlich, daß dem Meerschweinchenserum das Vermögen abgeht, den *Bacillus subtilis* zu vernichten, und doch findet sich, wie bekannt, im Meerschweinchenserum Alexin, sowohl hämolytisches als bakteriolytisches. Im Hinblick auf Metschnikoffs Hypothese, daß das Alexin von den Leukocyten her stammt, und daß das Serum

das Alexin infolge der Phagolyse enthält, erhebt sich ungesucht die Frage, weshalb nicht auch das subtilisbacillentötende Alexin in diesem Falle die Leukocyten verlassen hat und in das Serum übergegangen ist. Sind die Meerschweinchenleukocyten vielleicht resistenter als die Kaninchenleukocyten? Metschnikoffs Hypothese reicht offenbar nicht aus, dieses Verhältnis zu erklären.

Weil hat gleichfalls vor ganz kurzem die Einwirkung der Meerschweinchenleukocyten auf den *Bacillus subtilis* untersucht. Er hat dabei gefunden, daß die Meerschweinchenleukocyten allein nicht diese Mikrobe zu töten vermögen, sondern erst gemeinschaftlich mit dem Serum. Daß die Meerschweinchenleukocyten, von dem Serum befreit und in Bouillon extrahiert, also an und für sich bakterizides Vermögen gegenüber dem *Bacillus subtilis* besitzen, haben wir bereits in Versuch XI gesehen. Auf Weils Untersuchungen und auf die eben berührte Frage werde ich Gelegenheit haben, in einem anderen Kapitel eingehender zurückzukommen.

Auch bei der Katze finden wir, wie aus dem folgenden Versuch hervorgeht, die gleiche hohe Wärmeresistenz bei den Endolysinen.

Versuch XII.

Normalserum von Katze. 3 g Katzenleukocyten wurden in 3 ccm Bouillon durch Einfrieren und Auftauen extrahiert.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.
1 ccm Serum	448 (Mittel)	> 25 000
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		> 25 000
1 „ Bouillon		> 25 000
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		232
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		890
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		> 25 000

Außer der Inaktivierungstemperatur der Katzenleukocyten zeigt uns der Versuch, daß das Katzenserum in Uebereinstimmung mit dem Meerschweinchenserum bakterizider Substanzen gegenüber dem *Bacillus subtilis* entbehrt. Wir haben hier demnach ein weiteres Beispiel dafür, daß das bakterientötende Vermögen des Serums und das der Leukocyten einander nicht parallel gehen.

Wir haben nun gesehen, wie die Endolysine und die Serumbakteriolysine sich bei Erhitzung im gelösten Zustande verhalten. Ich frage mich nun, wie diese Stoffe sich bei Erhitzen in getrocknetem Zustande verhalten. Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß Enzyme im allgemeinen in trockenem Zustande einen bedeutend höheren Wärmegrad ohne Schädigung vertragen, als wenn sie sich in Lösung befinden. So wird z. B. das Pepsin in gelöstem Zustande bei der Siedetemperatur zerstört, während eine Erhitzung des trockenen Pepsins über 100°C es nicht zu destruieren vermag. Das Trypsin verträgt eine Erhitzung im festen Zustande auf 160° , während es gelöst nach den Angaben einiger bei 80°C , anderer schon bei 50°C inaktiviert wird.

Diese bekannten Verhältnisse veranlaßten auch Buchner, zu prüfen, ob die Resistenz des Serumalexins gegen Wärme in getrocknetem Zustande größer ist. Er erhitzte das eingetrocknete Serum eine halbe Stunde lang auf 70°C und fand, daß es demungeachtet noch im Besitz seiner hämolytischen Aktivität war. Bei welcher Temperatur das eingetrocknete Serum seine Wirkung verlor, prüfte Buchner nicht. Wie das Leukocytenextrakt sich in dieser Beziehung verhält, ist bisher auch nicht festgestellt worden. Schattenfroh untersuchte zwar, ob die Leukocyten eingetrocknet werden könnten, ohne daß die bakterizide Wirkung aufgehoben würde, und er fand auch, daß dies der Fall sei, die Wärmeresistenz der eingetrockneten Leukocyten oder ihrer Substanzen studierte er jedoch nicht.

Die folgenden Versuche zeigen, daß die Endolysine und die Serumalexine auch in festem Zustande eine verschiedene Resistenz gegen Erhitzung aufweisen.

Versuch XIII.

2,5 g Kaninchenleukocyten wurden in 2 ccm destilliertem Wasser aufgeschwemmt und durch Einfrieren und Auftauen extrahiert. Die Leukocytenemulsion wurde in zwei gleiche Portionen geteilt, die mittelst Pipette in kleine sterilisierte Porzellanmörser übergeführt wurden. Diese wurden in einem Exsikkator plaziert, der konzentrierte Schwefelsäure enthielt, und der Exsikkator wurde in einen Thermostaten bei $+37^{\circ}\text{C}$ gestellt. Nach 24 Stunden war die Leukocytenemulsion in eine vollkommen trockene Masse übergegangen. Der eine Mörser mit seinem Inhalt wurde im Trockenschrank

auf $+100^{\circ}\text{C}$ erhitzt. Danach wurde jede der beiden Leukocytenportionen, die erhitzte und die nicht erhitzte, in 1 ccm Bouillon zerrieben; die trübe Flüssigkeit wurde zentrifugiert, bis eine klare Lösung erhalten wurde, die abpipettiert und mit Bouillon versetzt wurde, so daß das Volumen 1 ccm betrug.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.	Nach 24 Std.
1 ccm Bouillon		25 000	Zunahme
1 „ eingetrocknetes Leukocytenextrakt	1375	0	0
1 „ eingetrocknetes Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei 100°C	(Mittel)	0	0

Der Versuch lehrt uns demnach, daß die Endolysine in trockenen Zustand übergeführt werden können, ohne daß ihre Wirkung sich ändert, und daß sie auch in diesem Zustande eine halbe Stunde lang auf 100°C erhitzt werden können, ohne daß ihre bakterizide Kraft geschädigt wird.

Friedberger, der sich mit der Frage nach der Haltbarkeit des Komplements beschäftigt hat, hat dabei unter anderem gefunden, daß Serum, welches bei Zimmertemperatur in direktem Tageslicht eingetrocknet wird, einen größeren Teil von seinem hämolytisch wirkenden Komplement verliert als Serum, das im Dunkeln eingetrocknet wird. Geschieht das Eintrocknen bei 37°C , so ist der Komplementgehalt binnen 12 Stunden vollständig verschwunden. Um festzustellen, ob die Endolysine gleichfalls Eintrocknen bei Tageslicht ohne Schädigung vertragen, wurden folgende Versuche angestellt.

Versuch XIV.

3,6 g Kaninchenleukocyten wurden gefroren und in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgetaut. Ein Viertel der Leukocytenemulsion wurde zur Bereitung von 1 ccm Kochsalzleukocytenextrakt in gewöhnlicher Weise angewandt; ein anderes Viertel wurde im Exsikkator mit konzentrierter Schwefelsäure wie im vorigen Versuch bei $+37^{\circ}\text{C}$ im Dunkeln eingetrocknet. Die übrigen zwei Viertel der Leukocytenemulsion wurden in gleicher Weise im Tageslicht bei Zimmertemperatur eingetrocknet. Die eine Hälfte hiervon wurde im Trockenschrank eine halbe Stunde lang auf 105°C erhitzt. Die eingetrockneten Massen wurden in destilliertem Wasser zerrieben und zentrifugiert, bis klare Extrakte erhalten wurden, die danach mit destilliertem Wasser verdünnt wurden, so daß das Volumen jedes Extraktes 1 ccm betrug.

Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 5 Std.
1 ccm Bouillon			> 25 000
1 „ Kochsalzleukocytenextrakt			0
1 „ Kochsalzleukocytenextrakt, eingetrocknet im Tageslicht bei Zimmertemperatur			0
1 „ Kochsalzleukocytenextrakt, eingetrocknet und erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei 105° C			52
1 „ Kochsalzleukocytenextrakt, eingetrocknet im Dunkeln bei +37° C	500 (Mittel)		0

Die Eintrocknung der Endolysine im Tageslicht schädigt die Endolysine offenbar ebenso wenig wie die Eintrocknung im Dunkeln. Sogar eine nachfolgende Erhitzung auf 105° C vermag sie nicht merkbar zu schädigen, wenn sie sich in getrocknetem Zustande befinden. Daß sie noch höhere Wärmegrade vertragen können, ist nicht undenkbar; Versuche, um dies festzustellen, habe ich indessen nicht ausgeführt.

Wir wollen nun sehen, wie die Serumbakteriolysine sich bei Eintrocknung und Erhitzung in getrocknetem Zustande verhalten.

Versuch XV.

4 Portionen Normalserum vom Kaninchen, zu je 1 ccm, wurden in sterilen Porzellanmörsern im Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure im Dunkeln bei +37° C eingetrocknet. Die Eintrocknung war vollständig nach 24 Stunden. 2 Portionen wurden darauf im Trockenschrank eine halbe Stunde lang auf 100° C erhitzt. Die getrockneten Massen wurden in je 1 ccm destilliertem Wasser zerrieben, in dem sie sich nahezu klar lösten.

Inhalt der Röhren		So- fort	Nach 4 Std.	Nach 24 Std.
Einsaat: <i>Bacillus subtilis</i> , Stockholm				
1 ccm Kaninchenserum			2	1
1 „ Kaninchenserum, eingetrocknet bei +37° C			12	3
1 „ Kaninchenserum, eingetrocknet bei +37° C, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 100° C			> 25 000	Zunahme
1 „ Bouillon	116 (Mittel)		> 25 000	„
Einsaat: <i>Bacillus anthracis</i>				
1 ccm Kaninchennormalserum			0	0
1 „ Kaninchennormalserum, eingetrocknet bei +37° C			0	0
1 „ Kaninchennormalserum, eingetrocknet bei 37° C, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 100° C			344	13 165
1 „ Bouillon	368 (Mittel)		2 416	14 310

2*

Auch das Serum verträgt, wie wir gesehen, eine Eintrocknung im Dunkeln bei 37° C, ohne daß seine bakterizide Wirkung gegenüber *B. subtilis* beeinträchtigt wird. Die Erhitzung auf 100° C während einer halben Stunde hat dagegen zu einer vollständigen Inaktivität geführt. Die Serumbakteriolysine unterscheiden sich also auch hierin von den Endolysinen.

Das hämolytische Komplement ist, wie aus Friedbergers bereits erwähnten Untersuchungen hervorgeht, auch gegen Eintrocknen im Tageslicht empfindlich, so daß ein großer Teil davon relativ rasch verloren geht. Wie das bakterizid wirkende Komplement sich hierbei verhält, ersehen wir aus folgendem Experiment.

Versuch XVI.

Normalserum vom Kaninchen wurde mit denselben Versuchsanordnungen wie im vorigen Experiment eingetrocknet, aber teils im direkten Tageslicht bei Zimmertemperatur, teils im Dunkeln bei + 37° C. Die Eintrocknung war nach 24 Stunden abgeschlossen.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren		So- fort	Nach 6 Std.
1 ccm Bouillon			> 25 000
1 „ Kaninchennormalserum			1
1 „ Kaninchennormalserum, eingetrocknet bei Tageslicht und Zimmertemperatur			8
1 „ Kaninchennormalserum, eingetrocknet bei Tageslicht und Zimmertemperatur, erhitzt 1/2 Std. auf 100° C			11 448
1 „ Kaninchennormalserum, eingetrocknet bei 37° C im Dunkeln			7
1 „ Kaninchennormalserum, eingetrocknet bei 37° C im Dunkeln, erhitzt 1/2 Std. auf 100° C			12 074
	350 (Mittel)		

Das Sonnenlicht hat demnach keine nennenswerte Zerstörung der bakterientötenden Substanzen im Serum herbeigeführt, wenigstens nicht während der Zeit von 24 Stunden, welche die Eintrocknung gedauert hat. Diesen meinen eigenen und Friedbergers Versuchen nach zu urteilen, scheint also das bakterizide Komplement resistenter zu sein als das hämolytische.

B. Das Verhalten der Endolysine bei Filtrieren.

Bei ihrem Suchen nach Beweisen für die Multiplizität des Komplements gelang es Ehrlich und Morgenroth durch

Anwendung des Pukallschen Filtrums, zwei Arten von hämolytischen Komplementen zu unterscheiden. Das eine ging mit dem Serum durch das Filter hindurch, das andere wurde ihrer Meinung nach adsorbiert. Vedder fand, daß das typhusbacillentötende Komplement im Unterschied von anderen bakteriziden Komplementen das Berkefeldsche Filtrum passierte. Pirenne bediente sich des Chamberlandschen Filters F und beobachtete bei den Filtraten bakterizide Aktivität, dagegen Abwesenheit von hämolytischer.

Gestützt auf diese Experimente, versuchte auch Pettersson durch Filtrieren die Endolysine und die Serumbakteriolysine zu differenzieren. Hierbei erwies sich weder das Chamberlandsche noch das Berkefeldsche Filter als anwendbar, dagegen fand er das Pukallsche Filter geeignet, den Unterschied zwischen den beiden Substanzen zu demonstrieren. In dem Serumfiltrat konnte er die Gegenwart von Serumalexinen, die gegen *Proteus mirabilis* und *Proteus Zenkeri* wirksam waren, nachweisen, während dagegen das Leukocytenextraktfiltrat unwirksam geworden war. Er schloß also daraus, daß die Serumalexine durch das Filter hindurchgegangen, die Endolysine dagegen zurückgehalten worden waren. Auch die milzbrandbacillentötenden Endolysine wurden von dem Filter zurückgehalten, in diesem Fall aber zeigten auch die Serumbakteriolysine dieselbe Eigenschaft.

Ob dieser von Pettersson nachgewiesene Unterschied zwischen den bakteriziden Substanzen des Serums und des Leukocytenextraktes eine größere Allgemeingültigkeit besitzt, wissen wir noch nicht. Ich erachtete es daher für interessant, in dieser Hinsicht auch *Bacillus subtilis* zu prüfen, die Mikrobe, die ich hauptsächlich bei meinen Studien über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Hämolysine angewandt habe.

Versuch XVII.

Von 5 g Kaninchenleukocyten wurden 7 cem Bouillonleukocytenextrakt durch Einfrieren und Auftauen bereitet. Das Extrakt wurde $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 56° C erhitzt¹⁾ und der durch die Erhitzung entstandene Nieder-

1) Ich stellte zuerst einen Versuch mit unerhitztem Leukocytenextrakt an, es zeigte sich aber, daß dieses nicht durch das Filter hindurchgehen konnte; ich erhitze es daher auf 56° C, um einen Teil des Eiweißes wegzuschaffen.

schlag abzentrifugiert. Ein Teil der klaren Flüssigkeit wurde durch ein unangewandtes sterilisiertes Pukallsches Filter hindurchgesogen. Das Extrakt ging mit Leichtigkeit durch das Filter hindurch und wurde mittels Pipette in die Reagenzröhre übergeführt.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4½ Std.	Nach 23 Std.
1 ccm Bouillon	1271 (Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, unfiltriert		296	0
1 „ „ „ filtriert		> 25 000	Zunahme

Versuch XVIII.

Kaninchennormalserum wurde durch ein neues Pukallsches Filter filtriert.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 7 Std.
1 ccm Bouillon	1335 (Mittel)	> 25 000
1 „ Serum, unfiltriert,		5
1 „ „ „ filtriert		35

Wir finden also, daß auch in diesem Fall derselbe Unterschied zwischen der bakteriziden Wirkung des Serums und des Leukocytenextraktes nach Filtrieren hervortritt. Das Leukocytenextraktfiltrat hat vollständig seine Aktivität verloren, das Serumfiltrat dagegen ist höchst unbedeutend, wenn überhaupt, abgeschwächt.

Worauf kann nun dieser Unterschied beruhen? Nach der Ansicht der oben genannten Forscher, die sich mit der Filtrierung hämolytischer und bakterizider Flüssigkeiten beschäftigt haben, spricht die verschiedene Filtrierbarkeit dafür, daß es sich um verschiedene Substanzen handelt. Das ist wohl auch wahrscheinlich der Fall. Beim Filtrieren machen sich, wie die Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt haben, zwei Faktoren geltend, teils die Größe der Teilchen, teils die Adsorption an die Oberfläche des Filters. Wir haben daher wohl Anlaß, anzunehmen, daß die Endolysine und die Serumalexine in der einen oder vielleicht in beiden Hinsichten voneinander abweichen. Viele Kolloide werden bekanntlich u. a. dadurch charakterisiert, daß sie durch bestimmte Filter nicht hindurchgehen. Die Endolysine ähneln demnach in dieser Hinsicht den Kolloiden.

C. Das Verhalten der Endolysine zur Röntgenbestrahlung.

Die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die weißen Blutkörperchen ist während der letzten Jahre Gegenstand einer ganzen Reihe von Untersuchungen gewesen. Man versuchte dadurch u. a. eine theoretische Erklärung für die günstige Wirkung zu erhalten, die man in mehreren Fällen bei Röntgenbehandlung von Leukämie, Pseudoleukämie und verwandten Krankheitszuständen beobachtet hat. Die grundlegenden Untersuchungen auf diesem Gebiete sind von Heineke angestellt worden. Er bestrahlte unsere gewöhnlichen Versuchstiere und beobachtete, daß die Röntgenstrahlen eine elektive destruierende Einwirkung auf die weißen Blutkörperchen, vor allem auf die Lymphocyten, hatten. Die meisten anderen Forscher haben Heinekes Beobachtungen bestätigt.

Diese Untersuchungen führten Schneider auf den Gedanken, die Röntgenstrahlen anzuwenden, um den Leukocyten ihre bakterientötenden Substanzen abzulocken. Er schwemmte die Leukocyten in Kochsalzlösung auf, goß sie in Petri-Schalen aus und belichtete diese, mit Filtrierpapier bedeckt, 15—20 Minuten mittels weicher Röhren (Bauersche Röhren, Müllersche Röhren: Funkenlänge 3—4 cm, Antikathodenabstand 15—20 cm). Danach wurden die belichteten Blutkörperchen 10—20 Minuten lang bei 37—38° C digeriert und durch Zentrifugierung von dem Digest abgeschieden. Eine solcherweise erhaltene Flüssigkeit zeigte sich indessen in den meisten Fällen unwirksam gegen den Typhusbacillus. Die Erklärung hierfür glaubte nun Schneider darin erblicken zu können, daß die Röntgenstrahlen kein sekretionsförderndes Agens für die Leukocyten seien; die bakteriziden Substanzen waren von den Zellen nicht an die Flüssigkeit abgegeben worden. Eine Schädigung der Leukocyten durch die Röntgenbestrahlung konnte Schneider auch nicht wahrnehmen; sie phagocytierten seiner Meinung nach ebensogut wie die unbelichteten. Er will daher nicht Heineke und den meisten anderen Forschern, die auf diesem Gebiet gearbeitet haben, beistimmen, nach welchen die Röntgenstrahlen eine destruierende Einwirkung auf die weißen Blutkörperchen ausüben. Eher will er ihnen eine die Phagocytose stimulierende Wir-

kung zuschreiben und schließt sich daher der Ansicht an, die von Müller und Jochmann nebst anderen vertreten wird, daß nämlich bei Röntgenbestrahlung von Leukämiepatienten keine erhebliche Schädigung oder Zerstörung der Leukocyten stattfindet.

Ich will im folgenden versuchen, eine ganz andere Erklärung für die Tatsache zu liefern, daß man nach Bestrahlung der Leukocyten keine bakterizid wirkende Flüssigkeit erhält. Wir wissen noch nicht, wie die Röntgenstrahlen auf die bakterientötenden Substanzen in den Leukocyten einwirken. Man könnte sich ja denken, daß sie auf dieselben inaktivierend wirkten. Eine gewisse Stütze für diese Annahme fand ich in Schmidt-Nielsens Untersuchungen über die Einwirkung des konzentrierten elektrischen Lichtes auf gewisse Enzyme. Er hat nämlich gefunden, daß Chymosin, Chymosinogen und das Antichymosin des Blutserums photolabil sind. Wir wollen nun sehen, wie ein wirksames Leukocytenextrakt sich nach Belichtung mit Röntgenstrahlen verhält. Des Vergleichs wegen habe ich auch denselben Versuch mit Serum angestellt.

Versuch XIX.

Von 4 g Kaninchenleukocyten wurden 4 ccm Bouillonextrakt in gewöhnlicher Weise durch Einfrieren und Auftauen bereitet. 2 ccm von dem Extrakt wurden in eine sterile Petri-Schale gebracht; in eine andere Schale wurden 2 ccm Kaninchennormalserum gegossen. Die beiden Schalen wurden bei 22 cm Antikathodenabstand symmetrisch unter einer Burgerischen Zentralröhre plaziert, so daß die beiden Flüssigkeiten der Berechnung nach gleich stark belichtet wurden. Die Deckel wurden abgenommen, und die Schalen statt dessen mit schwarzem Papier bedeckt, um dadurch eine Licht- und Wärmewirkung zu vermeiden. Ein ähnliches Papier wurde außerdem 4 cm unter der Lampe befestigt. Die Belichtung der Schalen geschah danach mit einem Röntgenlicht vom Penetrationsgrade Walter VI—VII, bei einer sekundären Stromstärke von 2 Milliampère und Sabourauds Reagenzpastille in 11 cm Antikathodenabstand, angebracht auf einer Bleiplatte und bedeckt mit dreifachem schwarzem Papier, bis zu einer Dosis von $BS = IV$, entsprechend 6 Holzknightschen Einheiten¹⁾. Hierzu war eine Zeit von 16 Minuten erforderlich. Die Papiere, welche die Schalen bedeckten, fühlten sich nach der Belichtung nicht warm an: das Papier unter der Lampe dagegen unbedeutend warm. Von den belichteten Flüssigkeiten wurde in sterilen Reagenzröhren je 1 ccm abgenommen.

1) Betreffs dieser Dosierung sei auf die im Literaturverzeichnis angeführte Arbeit Forssells verwiesen.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 3 Std.	Nach 20 Std.
Einsaat: <i>Bacillus subtilis</i> , Stockholm.			
1 ccm Bouillon	1917 (Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, unbelichtet		422	208
1 „ „ belichtet		> 25 000	Zunahme
1 „ Serum, unbelichtet		100	0
1 „ „ belichtet		196	2
Einsaat: <i>Bacillus typhi</i> , Stockholm.			
1 ccm Bouillon	1436 (Mittel)	> 50 000	Zunahme
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, unbelichtet		12	22
1 „ „ belichtet		19 461	Zunahme
1 „ Serum, unbelichtet		1	0
1 „ „ belichtet		3	0

Versuch XX.

1 ccm Bouillonleukocytenextrakt (bereitet von 1 g Kaninchenleukocyten) und 1 ccm Normalserum vom Kaninchen wurden mit derselben experimentellen Anordnung wie im vorigen Versuch 15 Minuten lang belichtet. BS = IV.

Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.	Nach 17 Std.
1 ccm Bouillon	480 (Mittel)	320	> 25 000
1 „ Bouillonleukocytenextrakt, unbelichtet		208	1
1 „ „ belichtet		168	9 158
1 „ Serum, unbelichtet		0	0
1 „ „ belichtet		1	0

Zwei andere Versuche mit derselben Anordnung und derselben Röntgendosis, einer mit Serum und einer mit Leukocytenextrakt, ergaben ähnliche Resultate, wie die eben angeführten Versuche und werden hier daher nicht wiedergegeben.

Betrachten wir diese Tabellen, so finden wir, daß das Leukocytenextrakt nach der Belichtung mit Röntgenstrahlen seine bakterizide Aktivität verloren hat, während das Serum dagegen vollständig unverändert geblieben ist. Die Endolysine und die Serumalexine verhalten sich also auch in dieser Hinsicht verschieden, die ersteren werden von Röntgenstrahlen inaktiviert, die letzteren sind resistent. Dieser Unterschied ist um so

bemerkenswerter, als die Serumalexine im übrigen sich als labilere Körper als die Endolysine erwiesen haben.

Die Eigenschaft der Röntgenstrahlen, die bakteriziden Substanzen in den Leukocyten zu zerstören, die im Serum aber ungeschädigt zu lassen, stimmt mit ihrer elektiven Wirkung im übrigen überein. Heineke, Mosse und Milchner, Krause und Ziegler fanden nämlich, daß die Röntgenstrahlen die weißen Blutkörperchen destruieren, während dagegen die Erythrocyten unverändert bleiben.

Dieses Ergebnis bezüglich der Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die bakterientötenden Stoffe läßt uns verstehen, weshalb es Schneider nicht gelang, mittels Röntgenstrahlen die Leukocyten dazu zu bringen, solche abzugeben. Die bakteriziden Stoffe wurden während der Belichtung inaktiviert, und ihre Wirkung kam daher niemals zum Vorschein. Daß die Leukocyten bei der Röntgenbelichtung ohne jede Schädigung bleiben, wie Schneider es behauptet, ist daher meines Erachtens wenig wahrscheinlich. Wir wissen außerdem, und zwar durch Schneiders eigene Untersuchungen, daß eine bloße Digestion in einer indifferenten Flüssigkeit hinreichend ist, einen nicht geringen Teil der Leukocyten so zu schädigen, daß sie nicht zu phagocytieren vermögen. Uebrigens sind die Versuche, die von Schneider und auch allen anderen angestellt worden sind, welche die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die weißen Blutkörperchen studiert haben, schwer zu kontrollieren, da sie keine exakten Angaben über die Röntgendosierung liefern, was natürlich von größtem Gewicht ist. Eigene Untersuchungen über die Resistenz der lebenden Leukocyten gegen die Röntgenstrahlen habe ich nicht angestellt, da ich diese Frage für außerhalb des Rahmens meiner Arbeit liegend erachtete.

In dem Vermögen der Röntgenstrahlen, die bakteriziden Substanzen der Leukocyten zu zerstören, könnte man möglicherweise eine Erklärung für die günstige Wirkung der Röntgenbehandlung bei Leukämie erblicken. Es wäre ja denkbar, daß die Röntgenstrahlen auch andere, gleichartige Körper, die von den Leukocyten herkommen, zerstören. Derartige Stoffe, durch die Leukolyse, die bei der Leukämie stattfindet, freigemacht, überschwemmen den Organismus und ver-

ursachen eine Autointoxikation desselben. Man könnte sich denken, daß man durch die Röntgenbehandlung eine Inaktivierung dieser Substanzen bewirkt.

D. Das Verhalten der Endolysine bei der Extraktion mittels Aethers.

In den letzteren Jahren hat man verschiedenerseits geltend zu machen versucht, daß Hämolysine und Bakteriolyse zu Substanzen, die den Fettarten nahestehen, den sogenannten Lipoiden, zu rechnen sind. Landsteiner und seine Mitarbeiter sehen in der Hämolyse, die sie mittels kolloidaler Kieselsäure und des Lipoids Lecithin bewirken können, eine der cytolytischen Wirkung des Serums analoge Erscheinung, wobei die Kieselsäure dem Ambozeptor und das Lecithin dem Komplement entsprechen sollen. Sie fanden, daß mit Aether aus roten Blutkörperchen und Bakterien extrahierte Lipide das Vermögen hatten, sich mit den betreffenden Ambozeptoren im Serum zu binden. Liebermann und Noguchi sind der Ansicht, daß es die im Serum vorkommenden Seifen sind, die als Komplemente fungieren, und letzterer glaubte sogar zu finden, daß das artifizielle Seifenkomplement zusammen mit Eiweiß dieselbe thermolabile Eigenschaft hatte wie das echte Serumkomplement.

Dieser Auffassung von Hämolysinen und Bakteriolyse ist indessen von anderer Seite eifrig entgegengetreten worden. So haben Kyes und Sachs, Hecker, v. Dungern und Coca wichtige Unterscheidungsmerkmale zwischen den echten und den artifiziellen Komplementen angegeben, auf die weiter einzugehen ich jedoch hier nicht Anlaß habe. Korschun und Morgenroth erhielten zwar alkohol- und ätherlösliche Substanzen in Organextrakten, die hämolytisch wirkten, sie hatten aber ganz andere Charaktere. Unter anderem waren sie nicht thermolabil, nicht komplex, wirkten nicht als Antigene.

Eine wichtige Stütze dafür, daß wenigstens gewisse Bakteriolyse nicht als Lipide zu betrachten sind, haben wir durch Petterssons Untersuchungen erhalten. Er prüfte die Löslichkeitsverhältnisse der Endolysine und der Serumbakteriolyse

in Alkohol und in einer Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Aether und beobachtete, daß sie beide aus ihren Lösungen von den genannten Stoffen ausgefällt wurden. Außerdem fand er auch, daß in den Leukocyten alkohollösliche bakterizide Stoffe vorkommen, die gegen gewisse Mikroben wirksam sind. Diese Substanzen sind indessen nicht thermolabil und werden daher von ihm nicht zu den wirklichen Bakteriolytinen gerechnet. Sie sind seiner Auffassung nach wahrscheinlich den hämolytischen Stoffen Korschuns und Morgenroths analog.

Alkohol eignet sich jedoch nicht immer als Fällungsmittel. Man findet nämlich bisweilen, daß die Endolysine und die Serumbakteriolytine durch Alkoholbehandlung zerstört werden. So verhält es sich meiner Erfahrung nach mit den bakteriziden Substanzen des Leukocytenextrakts und des Serums, die auf den *Bacillus subtilis* einwirken. Ich ging daher zu Versuchen mit Aether allein über. Ich rechnete darauf, daß der Aether, der rascher verdunstet, eine weniger schädigende Einwirkung als der Alkohol haben würde. Außerdem schien es mir interessant, zu untersuchen, wie sich die Endolysine dem Aether gegenüber verhalten. Kyes und Sachs sahen nämlich die komplementartigen Funktionen beim Serum nach Schütteln mit Aether verschwinden.

Versuch XXI.

Aus 1 g Kaninchenleukocyten wurde 1 ccm Extrakt in gewöhnlicher Weise bereitet. 2 g Kaninchenleukocyten wurden in 2 ccm dest. Wasser aufgeschwemmt, durch Einfrieren und Auftauen extrahiert und danach mit dem dreifachen Volumen Aether gemischt und längere Zeit gründlich geschüttelt. Das klare Aetherextrakt wurde abpipettiert und in eine sterile Verdunstungsschale übergeführt. Die Extraktion wurde noch dreimal mit demselben Volumen Aether wiederholt und der Rest der Leukocytenemulsion gleichfalls in eine Verdunstungsschale übergeführt. Nachdem das meiste vom Aether bei 40° C verdunstet war, wurden die Schalen behufs vollständiger Eintrocknung in einen Thermostaten gestellt. Die eingetrockneten Massen wurden zerrieben und in je 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt. In derselben Weise wurde mit normalem Serum vom Kaninchen verfahren. Zur Kontrolle wurde auch ein gleichgroßes Volumen Aether, wie es bei der Extraktion angewandt worden war, verdunstet und der Rückstand in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 6 Std.	Nach 24 Std.
1 ccm	Bouillon	114 (Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		3	232
1 "	Leukocytenätherextrakt		> 25 000	Zunahme
1 "	Leukocytenätherrest		0	0
1 "	Serum		0	0
1 "	Serumätherextrakt		> 25 000	Zunahme
1 "	Serumätherrest		> 25 000	"
1 "	Aetherkontrolle		> 25 000	"

Versuch XXII.

3 g Kaninchenleukocyten. Normalserum vom Kaninchen. Dasselbe Verfahren wie im vorigen Versuch, ausgenommen, daß die eingetrockneten Massen in 2 ccm Bouillon aufgeschwemmt wurden.

Einsaat: *Bacillus anthracis*.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 18 Std.
1 ccm	Bouillon	25 (Mittel)	> 25 000
1 "	Bouillonleukocytenextrakt		0
1 "	Leukocytenätherextrakt		> 25 000
1 "	Leukocytenätherrest		> 25 000
1 "	"		0
1 "	Serum		0
1 "	Serumätherextrakt		> 25 000
1 "	"		> 25 000
1 "	Serumätherrest		> 25 000
1 "	"		> 25 000

Diese beiden sowie andere ähnliche Versuche zeigen uns ein neues Unterscheidungsmerkmal zwischen den Endolysinen und den Serumbakteriolysinen. Die bakteriziden Substanzen der Leukocyten lassen sich nicht mit Aether extrahieren, sie finden sich ungeschwächt in dem Rückstand nach der Extraktion. Was dagegen das Serum betrifft, so treten die bakteriziden Substanzen weder in dem Extrakt noch in dem Rückstand hervor, sie sind offenbar destruiert. Die Endolysine können demnach mit Aether behandelt werden, ohne in ihrer Wirkung geschädigt zu werden, die Serumbakteriolysine dagegen werden zerstört.

Nachdem ich diese Versuche abgeschlossen, fand ich in Schneiders letzter Arbeit, daß er dieselbe Beobachtung betreffs der bakteriziden Substanzen der Leukocyten, die er

Leukine nennt, gemacht hat¹⁾). Diese und die übrigen Eigenschaften, die die Endolysine und die Leukine gemeinsam haben, wie die hohe Wärmeresistenz, ihr Verhalten gegenüber den Röntgenstrahlen u. a., machen es in hohem Grade wahrscheinlich, daß es sich um identische Substanzen handelt.

Gleichzeitig damit, daß diese Versuche die verschiedene Resistenz des Serums und des Leukocytenextraktes gegen Behandlung mit Aether demonstrieren, liefern sie uns eine weitere Stütze dafür, daß die Leukocytenbakteriolysine nicht als Lipoiden zu betrachten sind.

IV. Die komplexe Natur der Endolysine. Die Einwirkung des Leukocytenextraktes und des Serums aufeinander.

Nach der geläufigen Anschauung, wie sie in Bordets, Ehrlichs, Morgenroths u. a. Arbeiten vertreten ist, sind sowohl Serumbakteriolysine als Hämolysine sogenannte komplexe Körper. Sowohl die Bakteriolyse als die Hämolyse geht durch Zusammenwirken zweier Substanzen vor sich, von denen die eine thermostabil ist, die andere bei Erhitzung auf ungefähr 55° C zerstört wird. Bordet nennt die erstere „substance sensibilisatrice“ und meinte, daß sie bei der Immunisierung gebildet würde, letztere nannte er im Anschluß an Buchner Alexin und faßte sie als einen normalen Bestandteil des Serums auf. Ehrlich dagegen verwendet für den thermostabilen Teil die Bezeichnung Ambozeptor, für den thermolabilen Komplement.

Auch die Endolysine sind nach Pettersson als komplexe Körper zu betrachten. Er konnte nämlich die Wirkung des inaktivierten Leukocytenextraktes durch Zusatz kleiner Mengen unveränderten Extraktes wieder herstellen. Werbitzki gibt dagegen ganz neuerdings an, daß ihm dies nicht gelungen sei. Er sagt: „Die einmal (durch Erhitzung bis 80°) zerstörte bakterizide Wirkung der Leukocyten durch Zusatz einer geringen Quantität frischer Leukocyten wieder herzustellen, gelingt nicht.“

1) Meine Ergebnisse in dieser Hinsicht finden sich bereits in einer Arbeit von Pettersson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, erwähnt, die ungefähr gleichzeitig mit Schneiders Arbeit veröffentlicht wurde.

Folgender Versuch, der Petterssons Beobachtung völlig bestätigt, dürfte daher nicht ohne Interesse sein.

Versuch XXIII.

Kaninchenleukocyten wurden in Bouillon durch Einfrieren und Auftauen extrahiert (1 ccm Extrakt von 0,5 g Leukocyten). 1,8 ccm des Extrakts wurde zur Inaktivierung $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 75° C erhitzt.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 7 Stunden	Nach 16 Stunden
1 ccm Bouillon		> 25 000	Zunahme
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		0	0
1 „ inakt. Bouillonleukocytenextrakt		> 25 000	Zunahme
0,8 „ Bouillon + 0,2 ccm aktives Leukocytenextrakt		> 25 000	Zunahme
0,8 „ inakt. Leukocytenextrakt + 0,2 ccm aktives Leukocytenextrakt	372 (Mittel)	896	854

0,2 ccm frisches Leukocytenextrakt, das allein, wie wir sehen, keine bakterizide Wirkung herbeizuführen vermag, bildet dagegen zusammen mit 0,8 ccm inaktiviertem Extrakt eine Flüssigkeit mit deutlich bakterienhemmenden Eigenschaften. Bei den Endolysinen macht sich demnach dieselbe Komplexität geltend wie bei den Serum-bakteriolysinen. Daß Werbitzki diese Komplettierung nicht gelungen ist, beruht wahrscheinlich wohl darauf, daß er frische Leukocyten und nicht ihre Extrakte angewandt hat, wie das im obigen Versuch der Fall gewesen ist. Die Endolysine sind ja fest an das Protoplasma gebunden und müssen offenbar in der Flüssigkeit gelöst sein, damit ein Zusammenwirken hervortreten könne.

Ich fragte mich nun: welche Einwirkung üben die bakteriziden Substanzen im Serum und im Leukocytenextrakt aufeinander aus? Wie wir in mehreren Versuchen gefunden haben, ist auch das Kaninchenserum gegen den *Bacillus subtilis* wirksam. Ich prüfte daher zunächst, ob das inaktivierte Kaninchenserum sich durch kleine Mengen Kaninchenleukocytenextrakt reaktivieren läßt.

Versuch XXIV.

1,2 ccm Bouillonextrakt von 0,8 g Kaninchenleukocyten. Normals Serum vom Kaninchen.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Stunden	Nach 18 Stunden
1 ccm Bouillon	8/2 (Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		504	763
1 „ Serum		0	0
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		> 25 000	Zunahme
0,9 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C + 0,1 ccm Leukocytenextrakt		96	50
0,9 „ Bouillon + 0,1 ccm Leukocytenextrakt		> 25 000	Zunahme

Das inaktivierte Kaninchenserum kann demnach gleich dem Leukocytenextrakt seine bakterizide Aktivität zurückerhalten, wenn kleine Quantitäten nativen Extrakts hinzugesetzt werden. Auch das Meerschweinchenserum, das an und für sich außerstande ist, den *Bacillus subtilis* zu töten, wird aktiv im Verein mit Leukocytenextrakt.

Versuch XXV.

1,4 ccm Extrakt von 0,5 g Meerschweinchenleukocyten. Normalserum vom Meerschweinchen.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Weil.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Stunden	Nach 24 Stunden
1 ccm Meerschweinchenserum	1536 (Mittel)	5 469	> 25 000
1 „ Bouillon		> 25 000	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		544	76
0,8 „ Meerschweinchenserum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° C + 0,2 ccm Leukocyten- extrakt		360	165
0,8 „ Bouillon + 0,2 ccm Leukocytenextrakt		5 194	> 25 000

Wie soll man nun dieses Zusammenwirken zwischen zwei Flüssigkeiten, die allein nicht im stande sind, Bakterizidie zu bewirken, verstehen können? Bei Anwendung der Ehrlichen Theorie ist die Erklärung sehr einfach. Es läßt sich ja denken, daß das inaktivierte Kaninchenserum den Immunkörper enthält, den zum *Bacillus subtilis* passenden Ambozeptor. Durch das Leukocytenextrakt wird das nötige Komplement zugeführt. Ebenso verhält es sich mit dem Meerschweinchenserum; allein ist es ohne Wirkung, erhält aber eine solche, wenn ein Komplement von den Leukocyten her hinzugefügt wird. Der Ambozeptor ist dort schon vorher vor-

handen. Daß ein unwirksames Serum Ambozeptoren enthalten und nach Zusatz des anderen fehlenden Teiles des Komplexes wirksam werden kann, ist bereits von Bail und Pettersson betreffs des Milzbrandbacillus gezeigt worden. Das unwirksame Hunde- und Hühnerserum konnten diese Forscher dadurch aktivieren, daß sie Komplemente von anderen wirksamen Sera, von gewissen Organzellen und Leukocyten her zfügten.

Es erhebt sich nun die Frage: Spielt diese von den Leukocyten und dem Serum ausgehende komplexe Wirkung, die wir hier in vitro demonstriert haben, auch innerhalb des tierischen Organismus eine Rolle, ist sie für die natürliche Immunität unserer Versuchstiere bei Infektion mit *Bacillus subtilis* von Bedeutung? Wir haben bereits gezeigt, daß sowohl Kaninchen- als Meerschweinchenleukocyten für sich allein ohne Mitwirkung des Serums imstande sind, diese Mikrobe zu vernichten. Wird der *Subtilisbacillus* in den Tierkörper eingeführt, so wird er mit Begierde, wie mehrere Forscher gezeigt haben, von den Leukocyten aufgenommen. Es ist daher wohl höchst wahrscheinlich, daß es die bakteriziden Substanzen in den Leukocyten, die Endolysine, sind, die dabei in Wirksamkeit treten und die Bacillen unschädlich machen. Daß auch die oben-erwähnte Zusammenwirkung zwischen dem Serum und den Leukocyten in gewissen Fällen sich geltend machen kann, ist keineswegs undenkbar. Wo die Leukocyten in größerer Menge angesammelt sind, und ein Zerfall der Leukocyten stattgefunden hat, wodurch ihre bakteriziden Substanzen in das Serum hinausgelangt sind, kann möglicherweise eine solche Wirkung von Bedeutung sein.

Weil, der ganz neulich, nachdem ich diese Untersuchungen abgeschlossen, eine Arbeit über die Einwirkung der Leukocyten auf den *Bacillus subtilis* veröffentlicht hat, ist jedoch zu einer anderen Auffassung gekommen. Er glaubte gefunden zu haben, daß die Meerschweinchenleukocyten den *Subtilisbacillus* nicht zu vernichten vermögen, wenn sie in Kochsalzlösung oder Bouillon extrahiert werden, sondern erst, wenn die Extraktion in dem unwirksamen Meerschweinchen- oder Rinderserum vorgenommen wird. Gestützt auf diese Beob-

achtung baut er eine besondere Immunitätstheorie auf. Die natürliche Resistenz des Meerschweinchens gegen den *Bacillus subtilis* ist durch das Zusammenwirken zwischen dem Leukocytenkomplement und dem Immunkörper im Serum bedingt, welch letzteren er „leukotaktisch“, wegen seiner Affinität zu den Leukocytenstoffen, nennt. Dieser komplexe Faktor tritt im allgemeinen in Aktion nach Aufnahme der Bacillen in die Zellen unter Vermittelung der Opsonine: in Leukocytenansammlungen kann er jedoch auch als extracellulär wirkend gedacht werden.

Die Prämisse, auf welche Weil seine Hypothese stützt, ist jedoch meines Erachtens nicht unanfechtbar. Im Versuch XI habe ich bereits gezeigt, daß die Meerschweinchenleukocyten ohne Gegenwart von Serumsstoffen die *Subtilis* bacillen töten können. Es wäre indessen denkbar, daß die Verschiedenheit unserer Ergebnisse darauf beruhte, daß wir verschiedene *Subtilis* stämme angewendet haben. Dies trifft jedoch nicht das Richtige. Auch bei Versuchen mit Weils eigenem *Subtilis* stamm, den er die Freundlichkeit gehabt hat, uns zu senden, erhielt ich dasselbe Resultat. Die Ursache muß also eine andere sein.

Versuch XXVI.

1,2 g Meerschweinchenleukocyten wurden in drei gleiche Teile geteilt; der eine wurde in 1 ccm Meerschweinchenserum durch Einfrieren und Auftauen, der zweite in Kochsalzbouillon (0,8 ccm Kochsalzlösung + 0,2 ccm Bouillon) extrahiert. In beiden Fällen wurden die Leukocyten abzentrifugiert. Die dritte Portion wurde gleichfalls durch Einfrieren und Auftauen in Kochsalzbouillon extrahiert, die Leukocytenreste aber darin zurückgelassen. Normalserum vom Meerschweinchen.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Weil.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 3 Stunden	Nach 18 Stunden
1 ccm Serum	772 (Mittel)	672	> 25 000
1 „ Serumleukocytenextrakt		384	352
1 „ Kochsalzbouillonleukocytenextrakt		464	600
1 „ Kochsalzbouillonleukocytenextrakt, nicht zentrifugiert		352	280
1 „ Kochsalzbouillon		> 25 000	Zunahme

Das Kochsalzbouillonleukocytenextrakt, sowohl das zentrifugierte als das nichtzentrifugierte, hat ungefähr ebenso gute Wirkung wie Weils Serumleukocytenextrakt. Daß Weil mit bloßen Meerschweinchenleukocyten keine Bakterizidie erhalten hat, kann meines Erachtens entweder darauf beruhen, daß er eine für seine Einsaat zu kleine Leukocytenmenge angewandt hat, oder auch darauf, daß die von mir angewandten Leukocyten wirksamer gewesen sind. Bei zu großer Menge der Bakterien reichen die bakteriziden Substanzen nicht aus, was bereits Buchner betreffs des Serums gezeigt hat.

Auch durch eine andere Versuchsordnung kann man das Zusammenwirken zwischen dem Serum und den Leukocyten demonstrieren. Das inaktivierte Leukocytenextrakt kann nämlich, wie folgender Versuch zeigt, durch kleine Mengen Serum reaktiviert werden.

Versuch XXVII.

Extrakt von Meerschweinchenleukocyten in Bouillon durch Einfrieren und Auftauen (1 g pro ccm). Normalserum vom Kaninchen. Das Extrakt wurde durch halbstündige Erhitzung auf 75° C inaktiviert.

Einsaat: *Bacillus subtilis*, Stockholm.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 22 Std.
1 ccm Bouillon	(Mittel)	> 25 000	Zunahme
1 „ Kaninchenserum		0	0
0,8 „ Bouillon + 0,2 ccm Kaninchenser.		> 25 000	Zunahme
0,8 „ inakt. Leukocytenextrakt + 0,2 ccm Kaninchenserum		140	0
	373		

Unter Annahme der Ehrlichschen Hypothese könnte dieser Versuch dafür sprechen, daß das Leukocytenextrakt mit Ambozeptoren versehen ist, die zum *Bacillus subtilis* passen, und die im Verein mit Komplementen vom Kaninchenserum her ein bakteriolytisches System bilden. Man könnte demnach in diesem Experiment eine Stütze dafür sehen, daß die Leukocyten wenigstens als eine der Quellen für die Ambozeptoren zu betrachten sind.

Sei es nun, daß diese oder eine andere Erklärung, die die Zukunft vielleicht bringt, und die wir möglicherweise in

3*

den interessanten Untersuchungen Landsteiners, Liebermanns, Noguchis u. a. andeutungsweise sehen können, die richtige ist, so steht eines doch durch diese meine eigenen, Weils und seiner Mitarbeiter Tsudas und Toyosumis Untersuchungen fest, nämlich daß zwischen dem Serum und den Leukocyten ein Zusammenwirken stattfindet, das möglicherweise in gewissen Infektionsfällen eine nicht unbedeutende Rolle spielen kann. Sowohl Korschun als Schneider haben zwar gefunden, daß das inaktivierte Serum hemmend auf die Bakterizidie des Leukocytenextraktes wirkt, dies gilt aber für den Typhusbacillus und kann daher, wie aus dem Obigen hervorgeht, nicht als eine allgemeine Regel aufgefaßt werden.

V. Die Einwirkung der weißen Blutkörperchen auf die säurefesten Bacillen.

Die säurefesten Bacillen, der Tuberkelbacillus keineswegs ausgenommen, waren bis jetzt wenig Gegenstand einer Untersuchung in bezug auf ihre Empfindlichkeit gegen die bakteriziden Stoffe des Serums und der Leukocyten. Auf Grund der Schwierigkeiten, mit denen eine solche Untersuchung verbunden war, begnügte man sich hauptsächlich zu erforschen, wie sie sich innerhalb des Tierkörpers verhalten, und wie die Gewebe gegen sie reagieren. Unter diesen Arbeiten sind jedoch viele von Interesse, weil sie uns einen Fingerzeig geben, wo wir die Substanzen zu suchen haben, die bei der Vernichtung der Tuberkelbacillen wirksam sind.

Schon Koch beobachtete nach intravenöser oder intraperitonealer Injektion von Tuberkelbacillen, daß die Wanderzellen sich bald der Bacillen bemächtigten. Die Wanderzellen mit ihren Bacillen fixierten sich seiner Meinung nach in dem Gewebe und führten durch eine sukzessive Kernteilung zur Entstehung der Riesenzellen. Nach Injektion von Tuberkelbacillen bei einem Nager, *Spermophilus guttatus* Temminck, sah Metschnikoff die Stäbchen gleich darauf von zahlreichen Mikrophagen aufgefressen. Früher oder später gesellten sich zu ihnen auch Makrophagen, die sich zahlreicher

Bacillen bemächtigten, so daß manche von ihnen von Bacillen ganz strotzten. Die Tuberkelbacillen zeigten besonders in den Makrophagen degenerative Veränderungen, waren schwerer färbbar, hatten eigentümliche Formen angenommen usw. Metschnikoff betrachtet daher die Makrophagen als die wichtigsten Angriffswaffen des Organismus gegen die Tuberkelbacillen. Zu derselben Auffassung gelangten auch Metschnikoffs Schüler. Dembinski z. B. fand bei der Taube nach Infektion mit Vogeltuberkelbacillen, daß die polynukleären Leukocyten die ersten Zellen waren, die sich einfanden; etwas später traten auch die Makrophagen auf. Wandte er dagegen den humanen Typus an, so verlief der Prozeß insofern verschieden, als auch die Makrophagen sich bereits früh zeigten, ringförmig die Bacillen umschlossen, verschmolzen und so zur Entstehung von Riesenzellen führten. Die russischen Forscher Kostenitch und Volkow konnten dagegen keine Phagocytose beobachten. Baumgartens bekannte Auffassung von der passiven Rolle der Leukocyten im allgemeinen wie auch beim Aufbau der Tuberkel scheint durch diese Untersuchung eine gewisse Stütze zu erhalten. Auch Markl sah gleichzeitig mit Phagocytose extracelluläre Degeneration der Tuberkelbacillen, diese geht aber seiner Auffassung nach durch die Einwirkung leukocytärer Produkte vor sich. v. Behring hält (1905) daran fest, daß Leukocyten und glatte Muskelfasern als Angriffsstellen für das Tuberkulosevirus besondere Berücksichtigung verdienen. Von besonderem Interesse für die vorliegende Frage ist Löwensteins Beobachtung, daß die intracelluläre Lage der Tuberkelbacillen im Sputum eine günstigere Prognose angibt.

Durch die erwähnten Untersuchungen ist jedoch kein Beweis dafür geliefert, daß die Zellen, um die es sich gehandelt hat, wirklich bakterizide Substanzen enthalten, welche den Tuberkelbacillus zu töten vermögen. Erst in letzterer Zeit hat man begonnen, die Frage rationeller anzugreifen.

Bartel und sein Mitarbeiter Neumann ließen Blutserum, polynukleäre Leukocyten, Emulsion von Lymphdrüsen und anderen Organen im Reagenzröhrchen auf Tuberkelbacillen

längere oder kürzere Zeit einwirken und prüften dann die Virulenz der Bacillen durch Injektion an Meerschweinchen. Ferner wurden makrophagenhaltige Exsudate intra vitam mit Tuberkelbacillen in Berührung gelassen. Von Zeit zu Zeit wurden von dem bacillenhaltigen Exsudate Proben genommen, welche Meerschweinchen eingepflegt wurden. Aus diesen Versuchen zogen die genannten Forscher den Schluß, daß das lymphocytäre Gewebe die Hauptrolle bei der Abtötung des Tuberkelbacillus spielt, daß aber weder dem Alexin noch der polynukleären oder mononukleären Phagocytose eine ausschlaggebende Rolle zukommt.

In schroffem Gegensatze zu diesen Resultaten stehen diejenigen, zu denen Opie in einer von dem Rockefeller-Institut 1908 herausgegebenen Arbeit gelangt ist. Er infizierte Hunde intrapleural mit Tuberkelbacillen, und durch Einspritzungen von lebenden Hundeleukocyten gleichfalls in die Pleurahöhle gelang es ihm, die Tuberkulose zu einem langsameren Verlauf mit bestimmter Neigung zum Ausheilen zu bringen. Die Leukocyten, die nach Injektion von Terpentin in die Pleurahöhle erhalten worden waren, bestanden zu gleichen Teilen aus polynukleären und mononukleären Zellen. Wurden die Leukocyten einer Schädigung ausgesetzt, z. B. durch Aufbewahrung während einiger Tage bei niedriger Temperatur, so besaßen sie nicht mehr dieselbe Effektivität wie lebende.

Aus dieser kurzen Literaturübersicht ersehen wir demnach, daß es festgestellt zu sein scheint, daß die erste Reaktion des tierischen Körpers gegen den Tuberkelbacillus sich in einem Hinzuströmen polynukleärer Leukocyten äußert, und daß die meisten Forscher darin einig sind, daß die weißen Blutkörperchen als Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber dem Tuberkelbacillus anzusehen sind. Dagegen gehen die Ansichten darüber auseinander, welche Art von weißen Blutkörperchen dabei wirksam ist. Einige setzen die polynukleären Leukocyten an die erste Stelle, andere wieder die Makrophagen, eine dritte Auffassung betont die Bedeutung der Lymphocyten. Ich will nun zunächst die Frage nach der Wirkung der poly-

nukleären Leukocyten auf den Tuberkelbacillus behandeln, um dann im folgenden die Makrophagen und Lymphocyten zu prüfen.

A. Die Wirkung des Leukocytenextrakts auf die säurefesten Bacillen im Reagenzröhrchen.

1. Die polymorphkernigen Leukocyten.

Um einen sicheren Beweis dafür zu liefern, daß die polynukleären Leukocyten tuberkelbacillentötende Substanzen enthalten, wäre es wünschenswert, einen gewöhnlichen Bakterizidversuch anstellen zu können. Es war von vornherein klar, daß das langsame Wachstum des Tuberkelbacillus und die Schwierigkeit, ihn in homogener Emulsion zu erhalten, einem derartigen Versuch große Hindernisse in den Weg legen würde. Ich machte daher den Anfang mit einigen anderen säurefesten Bacillen, nämlich dem Timotheebacillus, Grasbacillus II, Kornsäurefestem Bacillus I und Rubners Butterbacillus. Es ist eine bekannte Sache, daß diese Bacillen sehr nahe verwandt mit dem Tuberkelbacillus sind. Diese Bakterien können, wie ihr Entdecker und später auch Mayer, Hölscher u. a. gezeigt haben, nach intravenöser und intraperitonealer Injektion bei gewissen Tieren Gewebsveränderungen hervorrufen, die makroskopisch und auch der Hauptsache nach mikroskopisch den echten Tuberkeln ähneln. Auch mehrere andere experimentelle Erfahrungen können als Stütze für die Verwandtschaft angeführt werden, worauf ich indessen hier keinen Anlaß habe einzugehen. Mit Wahrscheinlichkeit können wir daher wohl auch schließen, daß der tierische Organismus sich derselben bakteriziden Faktoren bedient, sowohl wenn es gilt, den Tuberkelbacillus wie die obenerwähnten säurefesten Bakterien zu vernichten.

Des Vergleichs wegen ist auch Blutserum in folgendem Versuche angewandt worden.

Versuch XXVIII.

3 g polymorphkernige Kaninchenleukocyten wurden durch Einfrieren und Auftauen in 3 cem Glyzerinbouillon extrahiert. Kaninchennormalserum.

Die Reagenzröhren wurden mit Gummipfropfen verschlossen, um eine Konzentration des Inhalts zu vermeiden.

Einsaat: *Timotheebacillus*.

Inhalt der Röhren	So- fort	Nach 18 Std.	Nach 44 Std.	Nach 66 Std.
1 ccm Glyzerinbouillon		5 151	16 599	> 100 000
1 „ Leukocytenextrakt		8 586	576	200
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		11 448	2 862	448
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		63 600	> 100 000	Zunahme
1 „ Serum	8013	5 634	4 006	2 226
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° C		6 296	37 206	> 100 000
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		9 158	63 600	> 100 000

Versuch XXIX.

3 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 3 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten. Kaninchennormalserum.

Einsaat: *Grasbacillus* II.

Inhalt der Röhren	So- fort	Nach 27 Std.	Nach 70 Std.
1 ccm Glyzerinbouillon		> 100 000	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		2 289	0
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 70° C		3 414	1 184
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		4 452	> 100 000
1 „ Serum	4006	13 737	45 792

Versuch XXX.

3 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 2,1 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten. Kaninchennormalserum.

Einsaat: *Korns säurefester Bacillus* I.

Inhalt der Röhren	So- fort	Nach 28 Std.	Nach 52 Std.	Nach 77 Std.
1 ccm Glyzerinbouillon		1280	> 100 000	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		—	264	3
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		2862	392	6
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		5724	6 868	57 240
1 „ Serum	1780	1653	2 862	8 586

Versuch XXXI.

3 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 2,1 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten. Kaninchennormalserum.

Einsaat: Rubners Butterbacillus.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 28 Std.	Nach 52 Std.	Nach 77 Std.
1 ccm Glyzerinbouillon		> 100 000	Zunahme	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		4 006	1 717	0
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		5 151	636	0
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		20 670	> 100 000	Zunahme
1 „ Serum	5724 (Mittel)	6 868	28 620	16 599

Versuch XXXII.

6 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 4 g polymorphkernigen Meerschweinchenleukocyten. Normalserum vom Meerschweinchen.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 27 Std.	Nach 69 Std.
Einsaat: Timotheebacillus			
1 ccm Glyzerinbouillon		> 100 000	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		8013	2862
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		9158	2289
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		10 303	3434
1 „ Serum		20 670	> 100 000
1 „ Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° C		12 020	> 100 000
Einsaat: Grasbacillus II			
1 ccm Glyzerinbouillon		> 100 000	Zunahme
1 „ Leukocytenextrakt		4479	0
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		15 454	2209
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		8013	29 764
1 „ Serum	11 444 (Mittel)	35 870	> 100 000

Versuch XXXIII.

3 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 3 g polymorphkernigen Katzenleukocyten. Normalserum von Katze.

Einsaat: Grasbacillus II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 22 Std.	Nach 47 Std.
1 ccm Glyzerinbouillon		8585	> 100 000
1 „ Leukocytenextrakt		3434	1399
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 70° C		13 165	> 100 000
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 80° C		57 240	> 100 000
1 „ Serum	2671 (Mittel)	19 461	> 100 000

Versuch XXXIV.

6 ccm Glycerinbouillonextrakt von 4,5 g polymorphkernigen Katzenleukocyten. Normalserum von Katze.

Inhalt der Röhren		So- fort	Nach 23 Std.	Nach 85 Std.
Einsaat: Korn's säurefester Bacillus I				
1 ccm	Glycerinbouillon	(Mittel)	4579	> 100 000
1 "	Leukocytenextrakt		648	0
1 "	Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		890	1048
1 "	Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		1971	11 448
1 "	Serum		1080	8222
1 "	Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° C	954	2162	22 846
Einsaat: Rubner's Butterbacillus				
1 ccm	Glycerinbouillon	(Mittel)	1017	> 100 000
1 "	Leukocytenextrakt		232	4579
1 "	Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C		1590	> 100 000
1 "	Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 75° C		1144	> 100 000
1 "	Serum		1462	> 100 000
1 "	Serum, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° C	699	1780	> 100 000

Ueberblicken wir diese Tabellen, so finden wir, daß das Leukocytenextrakt sowohl vom Kaninchen wie vom Meerschweinchen und der Katze eine deutliche bakterizide Wirkung auf die fraglichen säurefesten Bakterien ausübt. Seine Aktivität ist auch im allgemeinen nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Erhitzung auf 65° C noch vorhanden, bei einem Wärmegrad von ungefähr 75° C ist sie verschwunden. Wir sind daher wohl zu dem Schluß berechtigt, daß auch diese Bakterizidie durch die Gegenwart derselben bakterientötenden Substanzen im Leukocytenextrakt, wie sie im Vorhergehenden Gegenstand meiner Untersuchung gewesen sind, nämlich der Endolysine, bedingt ist. Eine der Eigenschaften dieser Stoffe, auf die Pettersson zuerst hingewiesen hat, ist die, daß sie relativ langsam ihre Wirkung ausüben. Es kommt diese Eigenschaft hier in höchst eklatanter Weise zum Ausdruck. Wir sehen, daß nach einer Zeit von ungefähr 24 Stunden die Bakterizidie sich noch nicht besonders bemerkbar gemacht hat, ca. 70—80 Stunden nach der Einsaat dagegen tritt sie deutlich hervor. Die Tabellen zeigen uns auch, daß das Blutserum der angewandten Versuchstiere im allgemeinen eines bakterientöten-

den Vermögens entbehrt; doch läßt sich eine schwache Wirkung des Kaninchenserums auf den Timotheebacillus und Korn's säurefesten Bacillus I, sowie des Katzenserums auf letztgenannte Bakterie wahrnehmen. Im Vergleich mit dem Leukocytenextrakt ist jedoch die Wirkung des Serums beträchtlich geringer.

Durch Untersuchungen von Mayer, Hölicher, D'Amore, die eingehender die pathologisch-anatomischen Veränderungen studiert haben, welche die Pseudotuberkelbacillen hervorrufen, wissen wir, daß diese Mikroben in Reinkultur unter gewöhnlichen Verhältnissen keine allgemeine Infektion bei unseren gewöhnlichen Versuchstieren, dem Meerschweinchen und Kaninchen, bewirken. Sie verursachen tuberkelähnliche Veränderungen, diese aber progredieren nicht, sondern erfahren eine eitrige Schmelzung, organisieren sich und heilen aus. Die Tiere besitzen demnach eine gewisse Immunität gegen diese Mikroben. Cantacuzène spritzte Timotheebacillen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen ein und sah, daß diese von den polynukleären Leukocyten aufgenommen wurden. Durch meine Versuche ist es bewiesen, daß diese Zellen mit bakteriziden Substanzen versehen sind, die den Timotheebacillus zu töten vermögen. Es liegen also meines Erachtens gute Gründe für die Auffassung vor, daß das Kaninchen, das Meerschweinchen und die Katze in den polymorphkernigen Leukocyten wichtige Verteidigungskräfte gegen die fraglichen säurefesten Bacillen besitzen.

Nachdem ich diese Versuche abgeschlossen, gelang es mir auch, im Reagenzröhrchen eine bakterizide Wirkung der polymorphkernigen Leukocyten gegenüber dem Tuberkelbacillus nachzuweisen und auf diese Weise den Analogieschluß zu stützen, den ich oben gezogen habe. Es ist dies nämlich mit Arloings homogenem Tuberkelbacillus möglich, den Herr Professor Arloing die Freundlichkeit gehabt hat, uns zu senden. Dieser Bacillus wächst sehr rasch. Nach ungefähr 4—5 Tagen bildet er auf einer Heyden-Agarplatte völlig sichtbare Kolonien, die also mit Leichtigkeit gezählt werden können.

Versuch XXXV.

3 cem Glyzerinbouillonextrakt von 3 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten.

Einsaat: *Bacillus tuberculosis* Arloing. Typus humanus.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 48 Std.	Nach 95 Std.
1 cem Leukocytenextrakt	4197	1600	1014
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 56° C	5724	2862	1590
1 „ Leukocytenextrakt, erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. auf 65° C	3434	4897	8268

Der Versuch zeigt uns deutlich, daß es den Tuberkelbacillen schwer fällt, sich in dem Leukocytenextrakt zu entwickeln; nach 48 und 95 Stunden tritt eine völlig deutliche, wenn auch nicht sehr große Verminderung der ursprünglichen Einsaat hervor. Der Unterschied ist übrigens wahrscheinlich größer, als es die Zahlen angeben. Die einzelnen Bacillen ließen sich nämlich nicht vollkommen voneinander isolieren; fast stets liegen mehrere Stück zusammen. Da aus diesem Grunde jede Kolonie nicht aus einer, sondern wahrscheinlich aus mehreren Bacillen hervorgegangen ist, so ist die Bakterizidie in Wirklichkeit größer, als die Tabelle es erkennen läßt. Eine $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung des Leukocytenextraktes auf 56° C hat das Extrakt nicht geschädigt. Dagegen sehen wir, daß in dem Röhrchen, das auf 65° C erwärmt gewesen, eine nicht unwesentliche Vermehrung der Bacillen stattgefunden hat. Zwischen den beiden ersten aktiven Flüssigkeiten und der dritten inaktiven zeigte sich außerdem ein anderer interessanter Unterschied. Die Bacillen waren auf der dritten Platte nach 5 Tagen zu makroskopisch völlig deutlich wahrnehmbaren Kolonien ausgewachsen, bei der ersten und zweiten Platte mußte ich dagegen 10 Tage warten, bis ich die Kolonien zählen konnte. Die noch lebenden Bacillen waren offenbar durch das aktive Extrakt geschädigt worden, so daß sie sich nicht so schnell wie gewöhnlich zu entwickeln vermochten. Andere Versuche mit Kaninchenleukocyten ergaben das gleiche Resultat.

Ich schließe daher aus diesem Versuch, daß die Endolysine großer Wahrscheinlichkeit nach imstande sind, auch Tuberkelbacillen des humanen Typus zu vernichten.

2. Die Makrophagen.

Wir haben oben gesehen, daß einige säurefeste Bacillen und unter ihnen auch der Tuberkelbacillus im Reagenzröhrchen durch die bakteriziden Stoffe der polymorphkernigen Leukocyten getötet werden. Das Folgende wird uns zeigen, wie die Makrophagen, die Zellen, die nach Metschnikoff vorzugsweise geeignet sind, den tierischen Organismus gegen den Tuberkelbacillus zu verteidigen, sich in dieser Beziehung verhalten.

Um dies prüfen zu können, müssen wir uns ein makrophagenhaltiges Exsudat verschaffen, das in möglichst geringem Maße andere Zellarten enthält; wir müssen ferner die Makrophagen in ungefähr derselben Menge haben, wie sie bei den Versuchen mit den polymorphkernigen Leukocyten verwendet worden ist, damit der Vergleich einigermaßen exakt sei. Eine Methode, isolierte Makrophagen in großer Menge zu erhalten, ist meines Wissens bisher nicht bekannt. Ich versuchte zuerst das von Tarasséwitsch angewandte Verfahren, in die Bauchhöhle gewaschene, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte rote Blutkörperchen fremder Tierarten einzuspritzen, erhielt aber dabei nur höchst unbedeutende Mengen Makrophagen. Ebenso wenig ergab die von Gengou angegebene und auch von Tarasséwitsch benutzte Methode, die darin besteht, daß man intraperitoneal Aleuronatemulsion in Bouillon injiziert und mit der Exsudatentnahme 48 bis 72 Stunden wartet, ein befriedigendes Resultat. In den Fällen, wo das Exsudat hierbei reichlicher war, zeigt es sich meistens mit großen Mengen polymorphkerniger Leukocyten vermischt; gewöhnlich enthielt es nicht mehr als 50—60 Proz. Makrophagen, in günstigen Fällen bis zu 75 Proz. Auch Schneider hat in letzter Zeit mit makrophagenhaltigen Exsudaten experimentiert, die er 4 Tage nach intraperitonealer Injektion von großen Mengen Bouillon erhält. Seine Exsudatmengen waren jedoch, seinen Angaben nach zu urteilen, nicht sehr groß; sie betrugen nicht mehr als 0,1 ccm von jedem Kaninchen.

Nach mehreren mißglückten Versuchen gelang es mir schließlich, eine Methode zu finden, die beträchtlich bessere Resultate als die vorher angewandten ergeben hat. Rohes

Hühnereiweiß wird mit ungefähr dem 2—4-fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung gemischt und vorsichtig in einem Kolben unter ständigem Umschütteln erhitzt, bis das Eiweiß in einer feinen, gleichmäßigen Emulsion ausgeschieden ist. Diese letztere wird danach im Autoklaven bei etwas über 100° C während einer Viertelstunde sterilisiert; geschieht die Sterilisierung bei höherer Temperatur oder zu lange, so backt gewöhnlich das Eiweiß zu großen Klumpen zusammen, die schwer durch die Spitze der Spritze zu bringen sind. Von der sterilisierten Emulsion werden in die Bauchhöhle ungefähr 20 ccm bei größeren Versuchstieren, wie Kaninchen und Katze, bei Meerschweinchen ungefähr 10 ccm eingespritzt; nach 24 Stunden wird von neuem eine ebensolche Injektion gemacht. Am 4. Tage nach der ersten Injektion wird das Tier getötet. In der Bauchhöhle sieht man dann das noch zum größten Teil unresorbierte Eiweiß in zusammengebackten Klumpen liegen, die mit den Därmen und dem Omentum verlötet sind. Das Peritoneum ist im übrigen unbedeutend injiziert, aber von mattem, trübem Aussehen; gewöhnlich findet sich nur eine geringe Menge flüssigen Exsudats. Die Bauchhöhle wird auf gewöhnliche Weise wiederholt mit Kochsalz-Oxalatlösung ausgespült, und die mehr oder weniger trübe Flüssigkeit zentrifugiert. Die so erhaltene Zellenmasse, die 2—3mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und kräftig zentrifugiert wird, ist in den meisten Fällen verhältnismäßig reichlich. Von großen Kaninchen und Katzen wurden oft 0,4—0,5—0,75 g Zellen erhalten, in einem Fall betrug die Menge sogar 1,5 g. Von Meerschweinchen dagegen gelingt es gewöhnlich nicht mehr als ungefähr 0,2—0,3 g pro Tier zu erhalten.

Die Zellmasse, die man mittels der oben angegebenen Methode erhält, besteht zum größten Teil aus großen mononukleären Zellen, zu einem geringeren Teil aus gewöhnlichen polymorphkernigen Leukocyten. Vom Kaninchen gelingt es meistens, ein Exsudat zu erhalten, in welchem die mononukleären Zellen 80—90 Proz. ausmachen, in zwei Fällen wurden sogar 99 Proz. erhalten; von Katze und Meerschweinchen ist es schwerer, so hohe Werte zu erhalten, bei ihnen liegt die Prozentzahl gewöhnlich um 75 herum; man

kann aber auch bei diesen Tieren Exsudate erhalten mit bis zu 85 Proz. mononukleären Zellen. Die mononukleären Elemente, die in diesen Exsudaten vorkommen, bestehen zum allergrößten Teil aus sehr großen Zellen mit einer voluminösen, unregelmäßig geformten, an nach May-Grünwald gefärbten Präparaten schwach blauen Protoplasmamasse ohne hervortretende Körnchen, sowie einem großen, runden bis ovalen, bisweilen auch gelappten, ziemlich gut färbbaren Kern. Außerdem sieht man eine geringe Zahl gewöhnlicher polymorphkerniger Leukocyten, sowie einige wenige Zellen, die kleiner als diese letzteren sind, mit einem kleinen, kräftig gefärbten Kern und einem dünnen, blauen Protoplasmamantel, am ehesten den gewöhnlichen Lymphocyten ähnelnd. Hat man ein infiziertes Exsudat erhalten, so ist es leicht zu sehen, wie die Bakterien von den großen einkernigen Zellen aufgenommen worden sind. Sie sind demnach als Phagocyten zu betrachten. Diese Zellen sind es, die von Metschnikoff Makrophagen genannt werden, und deren Aufgabe nach ihm und seinen Schülern u. a. die ist, Zellen und Zellreste sowie auch gewisse pathogene Mikroorganismen, wie Tuberkelbacillen und Spirochäten, aufzunehmen und zu vernichten. Diese Exsudatzellen sind jedoch nicht die einzigen Zellen, die Metschnikoff Makrophagen nennt. Er zählt zu ihnen auch eine ganze Reihe anderer Zellen, worauf hier einzugehen ich jedoch keinen Anlaß habe. Ich will hier nur noch einmal darauf hinweisen, daß die gewöhnlichen tuberkulösen Riesenzellen nach Metschnikoffs Auffassung von den fraglichen Exsudatmakrophagen herkommen.

Von derartigen Zellen wurde nun Extrakt auf gewöhnliche Weise durch Einfrieren und Auftauen bereitet.

Versuch XXXVI.

1 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 0,7 g Kaninchenmakrophagen ¹⁾
(91 Proz. mononukleäre und 9 Proz. polynukleäre Zellen).

Einsaat: *Grasbacillus* II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
1 ccm Glyzerinbouillon	14 310	> 100 000	Zunahme
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	> 100 000	„

1) Der Kürze wegen wird im folgenden die ganze Zellmasse Makrophagen genannt, obwohl sie nicht ausschließlich aus solchen Zellen besteht.

Versuch XXXVII.

1 cem Glyzerinbouillonextrakt von 0,7 g Kaninchenmakrophagen
(76 Proz. mononukleäre und 24 Proz. polymorphkernige Zellen).

Einsaat: *Timotheebacillus*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 25 Std.	Nach 49 Std.	Nach 72 Std.
1 cem Glyzerinbouillon	6360	> 100 000	Zunahme	Zunahme
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	31 800	45 219	52 600

Versuch XXXVIII.

1 cem Glyzerinbouillonextrakt von 0,9 g Kaninchenmakrophagen
(88 Proz. mononukleäre und 12 Proz. polymorphkernige Zellen).

Einsaat: *Korns säurefester Bacillus I.*

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
1 cem Glyzerinbouillon	4579	10 303	> 100 000
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	11 448	> 100 000

Versuch XXXIX.

1 cem Glyzerinbouillonextrakt von 1,3 g Kaninchenmakrophagen
(79 Proz. mononukleäre und 21 Proz. polymorphkernige Zellen).

Einsaat: *Rubners Butterbacillus*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
1 cem Glyzerinbouillon	4579	> 100 000	Zunahme
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	> 100 000	„

Versuch XL.

1 cem Bouillonleukocytenextrakt von 1 g Meerschweinchenmakrophagen
(70 Proz. mononukleäre und 30 Proz. polymorphkernige Zellen).

Einsaat: *Grasbacillus II.*

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
1 cem Glyzerinbouillon	5724	40 668	> 100 000
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	31 029	> 100 000

Versuch XLI.

1 cem Glyzerinbouillonextrakt von 0,8 g Meerschweinchenmakrophagen
(70 Proz. mononukleäre und 30 Proz. polymorphkernige Zellen).

Einsaat: *Timotheebacillus*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.
1 cem Glyzerinbouillon	4579	> 100 000	Zunahme
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	> 100 000	„

Versuch XLII.

2 ccm Glyzerinbouillon von 1,3 g Katzenmakrophagen (81 Proz. mononukleäre und 19 Proz. polymorphkernige Zellen).

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 26 Std.	Nach 48 Std.
Einsaat: Grasbacillus II			
1 ccm Glyzerinbouillon	9730	> 100 000	Zunahme
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	17 172	> 100 000
Einsaat: Timotheebacillus			
1 ccm Glyzerinbouillon	10 303	100 000	Zunahme
1 „ Makrophagenextrakt	(Mittel)	11 448	„

Versuch XLIII.

1 ccm Glyzerinbouillonextrakt von 1 g Kaninchenmakrophagen (80 Proz. mononukleäre und 20 Proz. polynukleäre Zellen).

Einsaat: Bac. tubercul. Arloing, Typ. hum.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 48 Stunden	Nach 96 Stunden
1 ccm Glyzerinbouillon ¹⁾	5724	—	—
1 „ Makrophagenextrakt	6360	8560	14 310

Diese 8 Versuche zeigen uns also, daß das Makrophagenextrakt sowohl vom Kaninchen wie vom Meerschweinchen und der Katze keine bakterizide Wirkung gegenüber den fraglichen säurefesten Mikroben besitzt. Die tuberkelbacillenähnlichen Bakterien, die mit Leichtigkeit von einem gewöhnlichen Leukocytenextrakt vernichtet werden, werden ebensowenig wie der resistere Tuberkelbacillus selbst beeinflußt.

Aus diesen Versuchsergebnissen möchte man wohl am ehesten geneigt sein, den Schluß zu ziehen, daß die Makrophagen keine bakteriziden Stoffe enthalten, die gegen die säurefesten Bakterien wirksam sind. Frühere Forschungsergebnisse betreffs anderer Mikroben stützen in gewissem Grade diese Auffassung. So fand Gengou, daß das Makrophagenexsudat nicht *Bacterium coli*, *typhi*, *Bacillus anthracis* und *Vibrio cholerae* zu töten vermochte, und Schneider hat neulich dieselbe Beobachtung bei Einsaat von *Bacillus typhi*, *anthracis* und *Staphylokokken* gemacht.

1) Auf den Platten, die der Glyzerinbouillonröhre nach 48 und 96 Stunden entnommen wurden, entwickelten sich keine Tuberkelbacillenkolonien, aus welchem Anlaß, kann ich nicht sagen.

Indessen sind unsere Kenntnisse bezüglich des eigentlichen Wesens der Bakteriolyse noch allzu unvollständig, um einen derartigen Schluß ziehen zu können. Man kann sich ja die Erklärung dafür, daß eine Bakterizidie nicht stattfindet, in verschiedener Weise denken. In den Makrophagen können sich z. B. bakterientötende Substanzen finden, die so labil sind, daß sie während der Extraktion zerstört werden. Oder auch enthält das Makrophagenextrakt Stoffe, die hemmend auf die Bakteriolyse wirken. Eine dritte Möglichkeit kann die sein, daß die Makrophagen zwar bakterizide Produkte bilden, daß diese sich aber in den Zellen selbst noch nicht in fertig gebildetem Zustande befinden und demnach mit den sogenannten Proenzymen vergleichbar sind.

Wir können daher meines Erachtens durchaus nicht die Möglichkeit ausschließen, daß die Makrophagen intra vitam doch das Vermögen haben können, die säurefesten Bakterien zu töten, obwohl wir in vitro keine bakterizide Wirkung dieser Zellen nachweisen können.

3. Die Lymphocyten.

Es bleibt uns nun noch übrig, die dritte Zellart, die Lymphocyten, zu prüfen, die von Bartel und seinem Mitarbeiter besonders als Verteidiger des tierischen Organismus gegen den Tuberkelbacillus in Anspruch genommen werden.

Eine Methode, ein lymphocytenhaltiges Exsudat herzustellen, kennen wir noch nicht, wenigstens nicht an unseren gewöhnlichen größeren Versuchstieren. Wolff und v. Torday gelang es zwar, Lymphocyten bei Mäusen zu erhalten, beim Meerschweinchen aber rief das gleiche Verfahren Polynukleose hervor.

Ich habe mich daher in Uebereinstimmung mit Bartel der lymphoiden Organe bedient, wie der Thymus, Milz, Lymphdrüsen und des roten Knochenmarks, alle vom Kaninchen. Von diesen Kaninchenorganen fand ich die Thymus aus mehreren Gründen am geeignetsten. Dieses Organ bietet den Vorteil, in größerer Menge bei jungen Kaninchen erhalten werden zu können; ein Tier z. B. von 900 g liefert eine Thymus, die ungefähr 2 g wiegt und in diesem Stadium seiner Hauptmasse nach aus Lymphocyten besteht, wenigstens nach der Ansicht

der meisten Anatomen. Stöhr bestreitet zwar in der letzten Auflage seines Lehrbuchs den lymphocytären Charakter der kleinen Thymuselemente, die gründlichen Untersuchungen von Hammar in den letzten Jahren machen es aber in hohem Grade wahrscheinlich, daß es sich um wirkliche Lymphocyten und nicht um Epithelzellen handelt. Lymphdrüsen dagegen sind schwer in größerer Quantität bei Kaninchen zu erhalten, die Milz ist infolge ihres großen Blutgehaltes weniger geeignet (Beimischung von Blut zu den weißen Blutkörperchen wirkt, wie bereits zu Anfang meiner Arbeit erwähnt worden ist, hemmend auf die Bakterizidie), und das rote Knochenmark ist ja auch mit polynukleären Leukocyten stark vermischt.

Die Organe wurden in sterilen Mörsern zusammen mit Glycerinbouillon zerrieben und danach in gewöhnlicher Weise durch Einfrieren und Auftauen extrahiert. Die Zellreste wurden abzentrifugiert.

Versuch XLIV.

Kaninchen, 8 Wochen alt, Gewicht 850 g. 1 g Thymus (die ganze Thymus wog 2 g), 0,5 g Milz, 0,5 g rotes Knochenmark und 1,2 g Ganglion mesenterii wurden je in 1 ccm Glycerinbouillon extrahiert.

Einsaat: *Timotheebacillus*.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 26 Stunden	Nach 48 Stunden
1 ccm Glycerinbouillon	10 303 (Mittel)	> 100 000	Zunahme
1 „ Thymusextrakt		22 896	Zunahme
1 „ Milzextrakt		20 024	Zunahme
1 „ rotes Knochenmarkextrakt		2 862	> 100 000
1 „ Lymphdrüsenextrakt		22 896	Zunahme

Versuch XLV.

Kaninchengewicht 1060 g. 0,5 g Thymus (Thymusgewicht 1 g), Milz, rotes Knochenmark und Ganglion mesenterii wurden je in 1 ccm Glycerinbouillon extrahiert.

Einsaat: *Grasbacillus* II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 27 Stunden	Nach 52 Stunden
1 ccm Glycerinbouillon	8586 (Mittel)	> 100 000	Zunahme
1 „ Thymusextrakt		> 100 000	Zunahme
1 „ Milzextrakt		57 240	> 100 000
1 „ rotes Knochenmarkextrakt		572	896
1 „ Lymphdrüsenextrakt		2 862	2

4*

Versuch XLVI.

Kaninchen, 9 Wochen alt, Gewicht 975 g. 1 g Thymus (Thymusgewicht 2 g), 0,8 g Milz, 0,5 g rotes Knochenmark und 0,9 g Ganglion mesenterii wurden je in 1 ccm Glyzerinbouillon extrahiert.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 24 Stunden	Nach 48 Stunden
Einsaat: Rubners Butterbacillus			
1 ccm Glyzerinbouillon	4579 (Mittel)	20 606	> 100 000
1 „ Thymusextrakt		19 080	> 100 000
1 „ Milzextrakt		25 440	> 100 000
1 „ rotes Knochenmarkextrakt		17 663	> 100 000
1 „ Lymphdrüsenextrakt		> 100 000	Zunahme
Einsaat: Korns säurefester Bacillus I			
1 ccm Glyzerinbouillon	4006 (Mittel)	20 606	> 100 000
1 „ Thymusextrakt		25 440	> 100 000

Versuch XLVII.

Kaninchengewicht 800 g. Thymusgewicht 2 g. 1 g der Drüse wurde in 1 ccm Glyzerinbouillon extrahiert¹⁾.

Einsaat: Bacillus tuberculos. Arloing, Typ. hum.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 48 Stunden	Nach 96 Stunden
1 ccm Glyzerinbouillon	6042	—	—
1 „ Thymusextrakt	3180	11 448	19 800

Betrachten wir diese Tabellen, so sehen wir, daß das Thymusextrakt sich in allen Fällen ohne bakterizide Wirkung zeigte. Was im besonderen den Tuberkelbacillus betrifft, so demonstriert der letzte Versuch, daß eine ziemlich ansehnliche Vermehrung der Bakterien nach 96 Stunden in der Thymusextraktröhre stattgefunden hatte. Auf den Platten, die aus dieser Röhre nach 48 und 96 Stunden entnommen wurden, entwickelten sich außerdem die Kolonien verhältnismäßig rasch und auch kräftig, so daß man leicht den Eindruck erhielt, daß das Thymusextrakt ein gutes Nährsubstrat für den Tuberkelbacillus ist. Das Gleiche war auch bei den Platten aus der Makrophagenextraktröhre der Fall.

1) Die Prüfung der Wirkung des Thymusextrakts auf den Tuberkelbacillus wurde gleichzeitig mit der Untersuchung des Makrophagenextrakts (siehe Versuch XLIII!) vorgenommen. Dieselbe Glyzerinbouillon diente daher als Kontrolle für beide Extrakte, und dieselbe Bemerkung wie in Versuch XLIII gilt demnach auch hier.

Bei dem roten Knochenmarkextrakt dagegen tritt in den Versuchen XLIV und XLV eine Bakterizidie hervor, die besonders im letzteren Versuch ziemlich stark ist. Den Anlaß hierfür haben wir wohl in der Gegenwart bakterientötender Produkte von den polymorphkernigen Leukocyten her zu suchen, die ja in nicht unerheblicher Menge in dem roten Knochenmark vorhanden sind. Auch von dem Lymphdrüsenextrakt sehen wir in Versuch XLV eine gute Wirkung, in den beiden übrigen Versuchen ist es jedoch ohne Effekt. Die Milz dagegen ist gleich der Thymus durchgehends ohne Wirkung.

Die Angaben, die man in der Literatur betreffs der bakterientötenden Kraft der lymphoiden Organe im allgemeinen antrifft, sind recht verschieden. Hankin glaubte, aus der Rattenmilz eine eiweißartige, zur Gruppe der Globuline gehörige Substanz extrahieren zu können, die seinem Befunde nach bakterientötend wirkte. Bitter wiederholte Hankins Versuche, konnte aber seine Ergebnisse nicht bestätigen. Christmas, Livingood und Conradi gelang es, aus der Milz, und letztgenanntem Forscher auch aus Lymphdrüsen, Extrakte zu erhalten, die sich entwicklungshemmend gegenüber verschiedenen Bakterien zeigten. Wauters sah kein bakterientötendes Vermögen bei dem Thymus-, Milz- und Lymphdrüsenextrakt, dagegen ein solches Vermögen bei dem Knochenmarkextrakt, welche Wirkung er den polynukleären Leukocyten zuschrieb. Bail, der nach dem Ursprungsort des Komplements suchte, fand, daß unter den Organen die Milz das einzige war, das das Hundeserum gegen den Milzbrandbacillus komplementieren konnte. Von den anderen Organen sagt er: „Knochenmark war nur in einem einzigen Falle (von 8 Versuchen) schwach wirksam, Lymphdrüsen (*Pancreas aselli*) und alle anderen Organe wirkten nicht. In peptonhaltiger Kochsalzlösung aufgeschwemmt, übten die Zellen vieler Organe bisweilen eine geringfügige, wenn auch nur schwer zu erkennende, entwicklungshemmende Wirkung aus, am deutlichsten meist die Lymphdrüsen.“ Bei Verwendung junger, kleiner Kaninchen erhielt er einige Male auch mit der Milz kein Komplement.

Meine oben angeführten Versuche liefern demnach eine weitere Stütze für die Auffassung, daß es im allgemeinen schwer ist, aus Organen, die nicht polynukleäre Leukocyten

in größerer Menge enthalten, kräftige bakterizide Flüssigkeiten zu erhalten. Damit will ich jedoch nicht verneinen, daß die Lymphocyten intra vitam bakterizide Eigenschaften gegenüber den säurefesten Bakterien entwickeln können. Wie es sich hiermit verhält, will ich im folgenden näher untersuchen.

B. Die Wirkung der in den Tierkörper eingeführten lebenden weißen Blutkörperchen auf den Tuberkelbacillus.

Um entscheiden zu können, ob unseren oben in der Reagenzröhre enthaltenen Resultaten auch die wirklichen Verhältnisse innerhalb des lebenden tierischen Organismus entsprechen, ist es notwendig, unseren Versuchen eine solche Anordnung zu geben, daß wir dadurch, soweit es möglich ist, die Natur nachahmen. Dadurch, daß wir die lebenden Zellen in intime Berührung mit der Mikrobe bringen, die wir der Einwirkung der ersteren aussetzen wollen, und durch Einführung der infizierten Masse in den Tierkörper haben wir uns recht gute natürliche Verhältnisse verschafft.

Diese Methode ist in die Immunitätsforschung von Pettersson eingeführt worden. Er zeigte bereits 1904, daß man das Meerschweinchen gegen eine Milzbrandinfektion dadurch schützen kann, daß man an der Infektionsstelle gleichzeitig lebende Hundeleukocyten einführt. Während der folgenden Jahre ist er auf dem eingeschlagenen Wege weitergegangen, und es ist ihm dabei gelungen, durch Injektion sowohl arteigener als artfremder Leukocyten eine gesteigerte Widerstandskraft bei den Versuchstieren gegen mehrere Arten von Bakterien, wie den Typhusbacillus, den Vibrio Metschnikoff und den Choleravibrio, zu erhalten. Er hat also eine passive Immunität mittelst Leukocyten hervorgerufen. In einer neulich erschienenen Arbeit faßt er das Resultat seiner letzten Untersuchung folgendermaßen zusammen:

„Gewaschene, frische Exsudatleukocyten sind, in den Tierkörper injiziert, imstande, eine bedeutende Schutzwirkung gegen Milzbrandinfektion zu entfalten. Die Schutzwirkung findet sowohl gegen Kultur- als auch gegen „tierische“ Bacillen statt. Der größte Schutzeffekt wird bei enger Berührung der Leukocyten mit den Bacillen erreicht. Die stärkste Heilwirkung einer bestimmten Art Leukocyten wird beim arteigenen Tier erhalten. Auch die Leukocytenextrakte wirken schützend, aber schwächer und unsicherer als die zu ihrer Herstellung verwendete Menge Leukocyten.

Zusammen mit Leukocyten injiziert, erhöht das Leukocytenextrakt ihre Schutzwirkung. Das Leukocytenextrakt begünstigt nicht die Phagocytose der Milzbrandbacillen. Die Vernichtung der Milzbrandbacillen dürfte nicht durch sezernierte bakterizide Stoffe stattfinden, sondern wird durch Phagocytose oder Umklammern der Bacillen von den Leukocyten hervorgerufen.“

Eine im Prinzip ähnliche Methode ist auch von Opie in der 1908 erschienenen und bereits oben angeführten Arbeit angewandt worden, in welcher er zu zeigen versucht, daß ein tuberkulöser Prozeß beim Hunde durch Einspritzen von lebenden Hundeleukocyten an der Infektionsstelle in seiner Entwicklung gehemmt oder sogar zur Heilung gebracht werden kann.

Ich will nun im folgenden untersuchen, wie die lebenden polymorphkernigen Leukocyten, die Makrophagen und die Lymphocyten, in den Tierkörper eingeführt, auf virulente Tuberkelbacillen einzuwirken vermögen. Zum Versuchstier wählte ich das allgemein angewandte Meerschweinchen, dessen große Empfindlichkeit für Tuberkulose wohlbekannt ist; die Zellen, deren Schutzwirkung untersucht werden sollte, wurden hauptsächlich vom Kaninchen genommen, aber auch Meerschweinchenleukocyten kamen zur Anwendung. Um einen einigermaßen exakten Vergleich zwischen den verschiedenen Arten von weißen Blutkörperchen zu ermöglichen, ist es notwendig, mit genau bestimmten Mengen davon zu arbeiten; die infizierende Dosis Tuberkelbacillen muß gleichfalls äußerst genau abgemessen sein. Und schließlich hat man sich am besten derselben Tuberkelbacillengeneration zu bedienen, um darauf rechnen zu können, daß die Virulenz der Bacillen so gleichwertig wie möglich sei. Auf keines dieser Verhältnisse haben Bartel und Neumann, ihren Angaben nach zu urteilen, genügend Rücksicht genommen.

Versuch XLVIII.

Die polymorphkernigen Leukocyten wurden in gewöhnlicher Weise durch intraperitoneale Injektion von Aleuronatemulsion, die Makrophagen nach der oben angegebenen Methode erhalten, und als Lymphocyten wurden die Thymusdrüsen junger Tiere, deren Gewicht zwischen 900 und 1000 g betrug, verwendet. Nachdem die Kaninchen an den Tagen zuvor mit Aleuronat- bzw. Hühnereiweißemulsion vorbehandelt worden waren, wurde der Versuch selbst während zweier Tage ausgeführt. Sobald eine gewisse Menge Leukocyten erhalten worden, wurden diese ein paarmal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und danach sehr sorgfältig mit einer Tuberkelbacillenemulsion von bekannter Stärke gemischt, worauf die in-

fizierte Leukocytenmasse in das Versuchstier eingespritzt wurde. Das Ganze wurde so rasch wie möglich ausgeführt, um ein Absterben der Zellen zu vermeiden. Die ausgeschnittenen Thymusdrüsen wurden gewogen und in sterilen Mörsern zusammen mit der Tuberkelbacillenemulsion fein zerrieben. Diese letztere wurde auf folgende Weise bereitet: Von einer 14 Tage alten Glyzerinbouillonkultur des humanen Typus wurde 1 g (zwischen sterilem Filtrierpapier getrocknet) abgewogen und sorgfältig in einer geringen Menge physiologischer Kochsalzlösung zerrieben. Die dicke Emulsion wurde darauf noch weiter mit Kochsalzlösung verdünnt und in ein abgewogenes steriles Zentrifugenröhrchen übergeführt. Nach kurzdauernder Zentrifugierung wurde die fein trübe Bacillenaufschwemmung von dem Bodensatz getrennt und in ein anderes abgewogenes Zentrifugenröhrchen übergeführt. Dieses Röhrchen wurde dann kräftig und lange zentrifugiert, bis eine klare, dem Aussehen nach bacillenfrie Flüssigkeit abpipettiert werden konnte; der Bodensatz, dessen Menge aus dem Gewicht der beiden Zentrifugenröhrchen berechnet wurde, wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und damit verdünnt, so daß jeder Kubikzentimeter $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen enthielt.

Serie I.

Meerschweinchen wurden mit 1 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten und $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus intraperitoneal geimpft. Nach 3 und 24 Stunden wurden Proben aus der Bauchhöhle entnommen, in welchen man Tuberkelbacillen von polymorphkernigen Leukocyten aufgenommen sah.

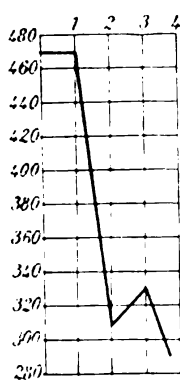
Tabelle XLVIII, 1.

No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
1	26	48	470	290	38,2	33,8	Reichlich Tuberkeln im Oment, spärlich auf dem Peritoneum, im übrigen allgemeine Tuberkulose.
2	26		460	270	41,3		Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
3	26		360	220	38,8		Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
4	50		470	320	31,9		Spärlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
5	112		470	390	19,1 ¹⁾		Lebercirrhose. Vereinzelt Tuberkeln auf dem Peritoneum. 10 ccm Ascites. Allgemeine Tuberkulose. Hochgradige Lebercirrhose. Milztumor.

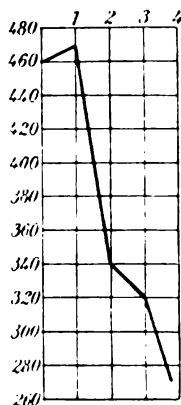
1) Bei der Berechnung des Gewichtsverlusts ist auf die Ascitesmenge Rücksicht genommen worden.

Tabelle XLVIII, 2.

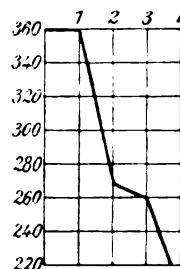
Die Gewichtsverhältnisse der Versuchstiere bei Impfung intraperitoneal mit 1 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten und Tuberkelbacillen¹⁾.



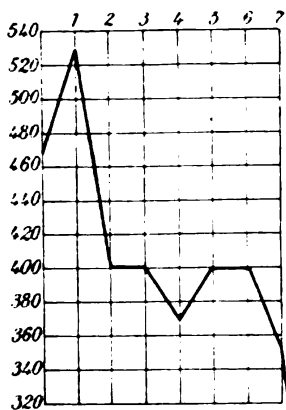
No. 1.



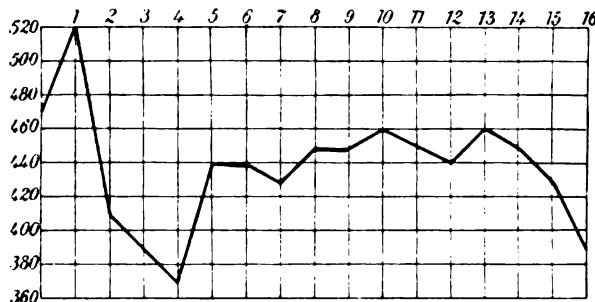
No. 2.



No. 3.



No. 4.



No. 5.

1) Die Tiere wurden einmal wöchentlich gewogen. Die Zahlen in der Vertikalreihe bezeichnen das Gewicht in Gramm, die in der Horizontalreihe die Wochen.

Mikroskopische Untersuchung: Auf dem Peritoneum teils typische Tuberkeln, teils ein Granulationsgewebe mit Langhansschen Riesenzellen. Die Leber zeigt bei den Tieren No. 1, 2 und 3, die 26 Tage lang gelebt haben, reichlich frische Tuberkeln, sowie nekrotische Konglomerattuberkeln, bei No. 4 dagegen, gestorben nach 50 Tagen, eine deutliche Vermehrung des interacinösen Gewebes, das an vielen Stellen das Aussehen eines gewöhnlichen tuberkulösen Granulationsgewebes mit eingestreuten Langhansschen Zellen hat, während frische Tuberkeln und nekrotische Konglomerattuberkeln hier seltener sind. In Fall 5, Lebensdauer 112 Tage, ist die Lebercirrhose sehr ausgesprochen (Fig. 2). In der bei den drei ersten Tieren etwas vergrößerten Milz sind die Follikel angeschwollen und in ein epitheloides Gewebe umgewandelt, hier und da mit im Zentrum vorkommenden Langhansschen Riesenzellen und Nekrosen, während ihre lymphoiden Elemente ihrer Anzahl nach reduziert sind. Die Partien zwischen den Follikeln und den Blutsinus sind von großzelligem Gewebe ausgefüllt, in welchem man auch eine ziemlich reichliche Anzahl typischer Tuberkeln sieht. Bei dem Tiere No. 4 ist das allgemeine Aussehen der Milz ungefähr das gleiche, hier aber kommen auffallend reichlich Langhanssche Riesenzellen vor. Der Milztumor dagegen bei No. 5 zeigt große Partien von teils nekrotischem, teils hyalinem Gewebe mit sehr reichlich eingesprengten Langhansschen Zellen. Dazwischen liegen erweiterte, blutgefüllte Sinus, zellreiche, epitheloide Partien und Anhäufungen von Lymphocyten. Hier und da in dieser Milz sieht man Riesenzellen, die nicht den gewöhnlichen Langhansschen ähneln. Sie haben meistens einen großen, runden, stark gefärbten Kern in der Mitte der Zelle und ein ziemlich reichliches Protoplasma (vergl. Fig. 3 u. 4). In einigen Zellen sieht man auch mehrere Kerne, diese sind aber größer als bei den Langhansschen Zellen und liegen nicht wie diese an dem einen Pol angeordnet. Diese Zellen zeigen eine auffallende Ähnlichkeit mit denen, die Sternberg 1898 in einer Arbeit „Ueber eine eigenartige, unter dem Bilde der Pseudoleukämie verlaufende Tuberkulose des lymphatischen Apparates“ beschrieben hat, worin er das Vorkommen derartiger Zellen in mehreren Organen, wie Lymphdrüsen, Milz, Leber und Lungen nachweist. Im folgenden will ich der Kürze wegen die fraglichen Elemente Sternbergsche Zellen nennen. Auf ihre Bedeutung komme ich noch zu sprechen. In den Lungen ist die Tuberkulose in allen Fällen von typischem Aussehen, am weitesten vorgeschritten bei den Tieren 4 und 5. Die Lymphdrüsen zeigen im allgemeinen nichts Bemerkenswertes, doch haben sie bei den beiden am längsten lebenden Meerschweinchen in mehreren Fällen das Aussehen großzelliger Hyperplasie mit vereinzelt Sternbergschen Zellen.

Serie II.

Meerschweinchen wurden mit 1 g polymorphkernigen Kaninchenleuko-
cyten und $\frac{1}{80}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus intraperitoneal ge-
impft. Am dritten Tage danach wurden in die Bauchhöhle weitere 1 g
Leukoeyten derselben Art eingespritzt.

Tabelle XLVIII, 3.

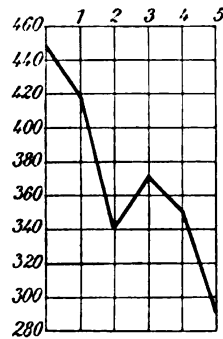
No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
6	35		450	290	35,5		Ziemlich reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgem. Tuberkulose.
7	72		460	375	29,3		Eine sehr geringe Menge makroskopisch sichtbarer Tuberkeln auf dem Peritoneum. 50 ccm Ascites. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
8	75		450	560	0 ¹⁾		Keine sichtbaren Tuberkeln auf dem Peritoneum. 100 ccm Ascites. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
9	82	80,6	600	410	31,6	31,8	Vereinzelte käsige Herde im Oment und Peritoneum, im übrigen Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
10	139		420	290	30,9		In der Bauchhöhle drei runde, haselnußgroße Geschwülste mit käsigem Inhalt und fibröser Kapsel. Beginnende Lebercirrhose, unbedeutende Vergrößerung der Milz. Allgemeine Tuberkulose.

Mikroskopische Untersuchung: Das Peritoneum bei den Tieren 6, 7, 8 und 9 zeigt an den Stellen, die bei der Sektion den Eindruck machten, tuberkulös zu sein, das typische Aussehen eines tuberkulösen Granulationsgewebes mit eingesprengten nekrotischen Tuberkeln. Die runden Geschwülste bei dem Tier No. 10 erwiesen sich als im Zentrum aus einer abgestorbenen Zellmasse bestehend, mit vereinzelt mehr erhaltenen Zellen, die polymorphkernigen Leukocyten und Lymphocyten ähneln; nach außen davon findet sich eine fibröse Kapsel, die an manchen Stellen Partien von tuberkulösem Granulationsgewebe aufweist. Die Leber enthält bei dem nach 35 Tagen gestorbenen Tier reichlich miliare Tuberkeln und nekrotische Konglomerattuberkeln, bei allen übrigen Meerschweinchen dagegen sieht man eine mehr oder weniger ausgesprochene Vermehrung des interacinösen Bindegewebes, das an einigen Stellen mehr fibrös, an anderen dagegen mehr großzellig mit Langhansschen Riesenzellen und auch vereinzelt Sternbergschen Zellen ist. In diesen Lebern muß man nach frischen typischen Tuberkeln suchen. Hier und da in dem Bindegewebe sieht man jedoch

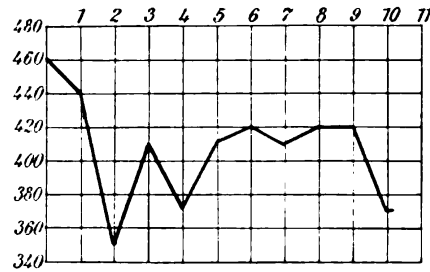
1) Nach Abrechnung von 100 g Ascites bleibt eine Gewichtszunahme von 10 g zurück. Da es schwer ist, bei diesem Tier die wirklichen Gewichtsverhältnisse zu bestimmen, so ist es bei der Berechnung des mittleren Gewichts nicht berücksichtigt worden.

Tabelle XLVIII, 4.

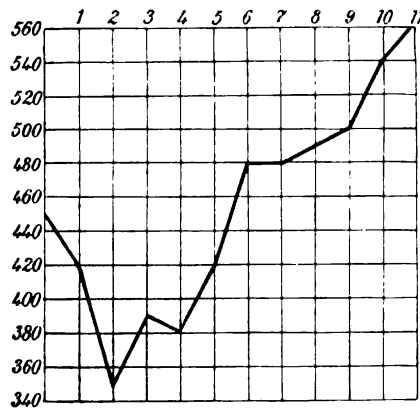
Die Gewichtsverhältnisse der Versuchstiere bei Impfung intraperitoneal mit 2 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten und Tuberkelbacillen.



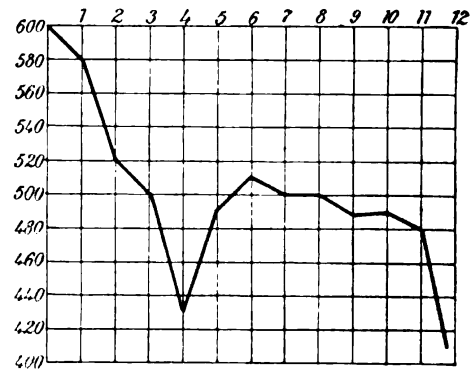
No. 6.



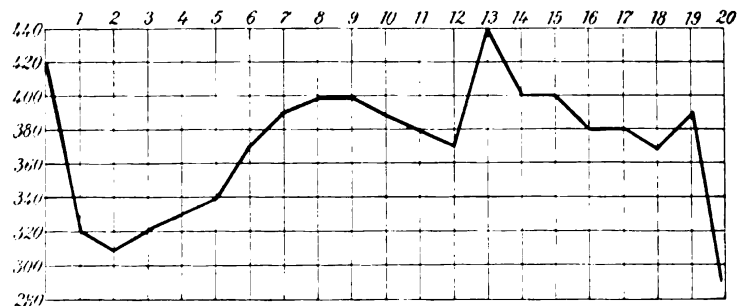
No. 7.



No. 8.



No. 9.



No. 10.

Nekrosen. In den bei denselben Tieren vorkommenden großen Milzen sind die Follikel beträchtlich angeschwollen, so daß sie an vielen Stellen aneinanderstoßen; sie sind ferner epitheloid umgewandelt. In den Maschen zwischen den Follikeln treten blutgefüllte Sinus und Reste von lymphoidem

Gewebe hervor. Im allgemeinen finden sich nicht viele nekrotische Stellen. Hier und da sieht man Langhanssche und Sternbergsche Zellen. In der unbedeutend vergrößerten Milz beim Tier No. 10 ist die Hyperplasie jedoch weniger ausgesprochen, und hier finden sich frische Tuberkeln in reichlicherer Zahl. Das gleiche ist der Fall bei dem Tier No. 6 mit der kürzesten Lebensdauer. In den Lungen typische Tuberkeln bei allen Versuchstieren. Die Lymphdrüsen bei den Tieren, welche längere Zeit gelebt haben, zeigen öfter das Bild einer großzelligen Hyperplasie als die gewöhnliche Form mit nekrotischen Tuberkeln. In vereinzelter Drüsen trifft man auch Sternbergsche Zellen an.

Serie III.

1 g Kaninchenmakrophagen (90 Proz. mononukleäre Zellen und 10 Proz. polymorphkernige Leukocyten) wurden zusammen mit $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus intraperitoneal in Meerschweinchen injiziert. Proben, nach 1 und 24 Stunden der Bauchhöhle entnommen, zeigten Tuberkelbacillen von Makrophagen aufgenommen.

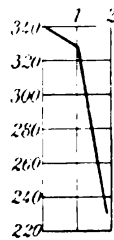
Tabelle XLVIII, 5.

No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach d. Infektion ¹⁾ Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
11	(13)		340	230	32,3		Vereinzelte Tuberkeln auf dem Peritoneum. Keine Tuberkulose in den Organen.
12	39		370	260	29,7		Ein walnußgroßer, runder Tumor in der Bauchhöhle mit käsigem Inhalt und fibröser Kapsel. Im übrigen spärliche Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
13	41		380	260	31,5		Drei nahezu haselnußgroße, runde Geschwülste in der Bauchhöhle mit kittartigem Inhalt und fibröser Kapsel. Im übrigen ziemlich spärlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
14	52	48,2	560	540	25,0	30,4	Spärlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. 120 cem Ascites. Beginnende Lebercirrhose. Mäßiger Milztumor. Allgem. Tuberkulose.
15	61		420	270	35,7		In dem Oment ein haselnußgroßer käsiger Herd mit schwieliger Begrenzung. Im übrigen vereinzelte Tuberkeln auf dem Peritoneum. Mäßiger Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.

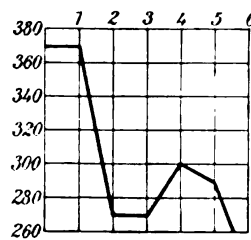
1) Das Mittel ist aus den Zahlen für die 4 mit Sicherheit an Tuberkulose gestorbenen Tiere berechnet, ebenso der mittlere Gewichtsverlust.

Tabelle XLVIII, 6.

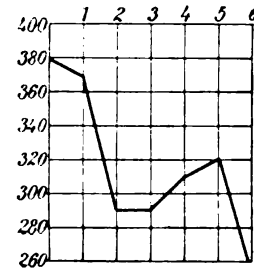
Die Gewichtsverhältnisse der Versuchstiere bei Impfung intraperitoneal mit 1 g Kaninchenmakrophagen und Tuberkelbacillen.



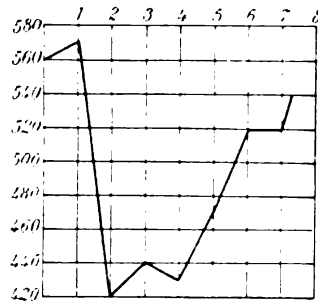
No. 11.



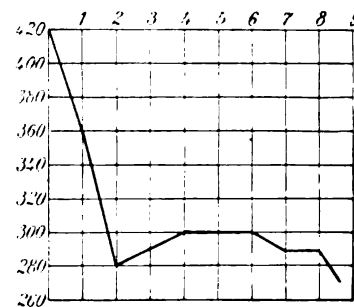
No. 12.



No. 13.



No. 14.



No. 15.

Mikroskopische Untersuchung: Die käsigen Geschwülste in der Bauchhöhle bei den Tieren No. 12, 13 und 15 zeigen dasselbe Aussehen wie das oben beim Tier No. 10 beschriebene. Die Peritonealtuberkulose im übrigen von gewöhnlichem Aussehen. In der Leber bei den 4 an allgemeiner Tuberkulose gestorbenen Tieren reichlich miliare und nekrotische Konglomerat-tuberkeln, in den Fällen No. 14 und 15 außerdem eine beginnende Cirrhose von gewöhnlichem Aussehen. Die Milz zeigt bei No. 11 eine Andeutung von Sinuskatarrh und geringe Anschwellung der Follikel, aber keine Tuberkeln, während in allen übrigen Fällen die etwas vergrößerten Milzen geschwollene, epitheloide Follikel, erweiterte, blutgefüllte Sinus und eine Reduzierung des lymphoiden Gewebes aufweisen. Nekrosen kommen im allgemeinen spärlich vor, ebenso Langhanssche Zellen. Dagegen sieht man in diesen Milzen, besonders in Fall 12, sehr reichlich Sternbergsche Zellen (Fig. 3 u. 4). In den Lungen typische Tuberkulose.

Serie IV.

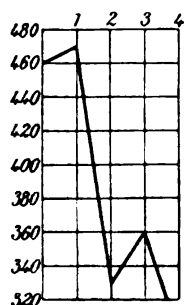
Meerschweinchen wurden mit $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus intraperitoneal geimpft.

Tabelle XLVIII, 7.

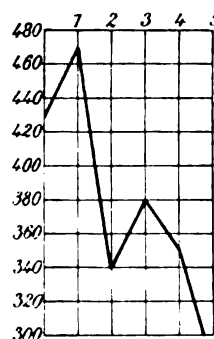
No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebensdauer nach d. Infektion ¹⁾ Tage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichtsverlust in Proz.	Sektionsbefund
(16)	7		330	—	—		Peritonitis durch Sekundärinfektion. Keine Tuberkulose.
17	26	38,7	460	320	30,4	32	Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
18	33		430	300	30,2		Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
19	34		380	280	26,3		Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
20	62		570	410	41,2		Vereinzelte Tuberkeln auf dem Peritoneum. 75 ccm Ascites. Beginnende Lebercirrhose. Mäßiger Milztumor. Allgem. Tuberkulose.

Tabelle XLVIII, 8.

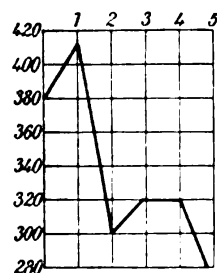
Die Gewichtsverhältnisse der Kontrolltiere bei Impfung intraperitoneal mit Tuberkelbacillen.



No. 17.



No. 18.



No. 19.



No. 20.

1) Das Mittel bezieht sich auf die 4 an Tuberkulose gestorbenen Tiere.

Mikroskopische Untersuchung: Auf dem Peritoneum miliare Tuberkeln, nekrotische Konglomerattuberkeln und Granulationsgewebe mit Langhansschen Riesenzellen. Die Leber ist bei allen Tieren, mit Ausnahme von No. 16, das keine Anzeichen von Tuberkulose aufwies, von einer reichlichen Menge miliarer und nekrotischer Konglomerattuberkeln durchsetzt (vergl. Fig. 1); beim Meerschweinchen No. 20, das 62 Tage lebte, außerdem eine beginnende Cirrhose. In den Milzen, die etwas vergrößert sind, sind die Follikel geschwollen, epitheloid, mit ziemlich reichlich vorkommenden Nekrosen im Zentrum. Das lymphoide Gewebe reduziert. Langhanssche Zellen kommen spärlich vor. In den Lungen weit vorgeschrittene Tuberkulose von gewöhnlichem Aussehen. In den Lymphdrüsen in der Bauchhöhle gewöhnlich nekrotische Tuberkeln, hier und da zeigt eine das Aussehen großzelliger Hyperplasie.

Serie V.

1 g polymorphkernige Kaninchenleukocyten und $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus werden Meerschweinchen subkutan an dem einen Schenkel eingimpft.

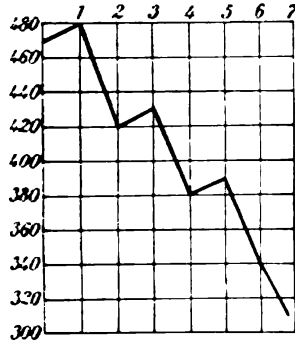
Tabelle XLVIII, 9.

No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
21	48	104,2	470	310	34,0	20,5	Impftuberkulose und allgemeine Tuberkulose.
22	90		470	340	27,6		Impftuberkulose. Unbedeutender Ascites. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
23	91		420	320	23,8		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
24	134		520	500	5,7		Impftuberkulose. 10 ccm Ascites. Hochgradige Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
25	158		510	450	11,7		Impftuberkulose. Hochgradige Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.

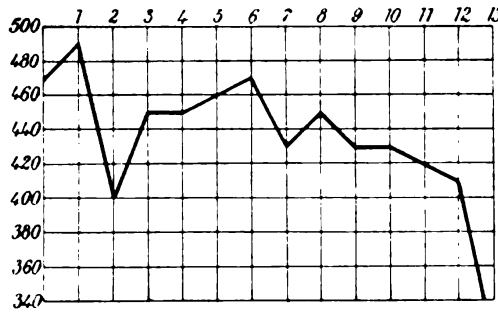
Mikroskopische Untersuchung: An der Impfstelle sieht man Nekrosen, tuberkulöses Granulationsgewebe und fibröse Partien. Bei den Tieren No. 22 bis 25 ist die Leber hochgradig cirrhotisch, besonders bei No. 24 und 25, die am längsten gelebt haben. Dort sieht man mehr Bindegewebe als Parenchym. Im allgemeinen keine frischen typischen Tuberkeln. Das Bindegewebe ist an einigen Stellen großzellig, mit eingesprengten Langhansschen Riesenzellen und vereinzelten Sternbergschen Zellen, an

Tabelle XLVIII, 10.

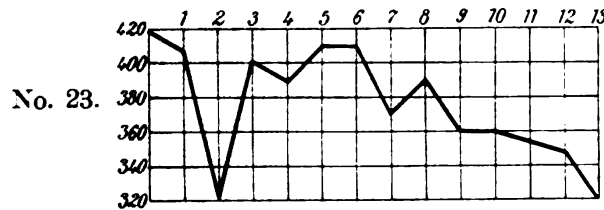
Die Gewichtsverhältnisse der Versuchstiere bei Impfung subkutan mit 1 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten und Tuberkelbacillen.



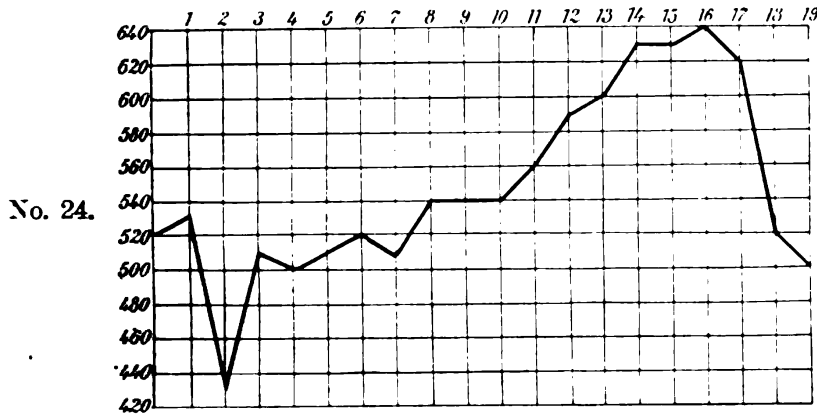
No. 21.



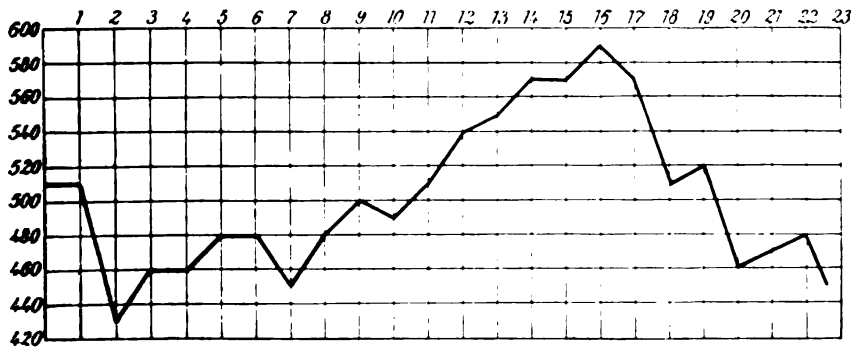
No. 22.



No. 23.



No. 24.



No. 25.

anderen Stellen mehr zellarm, fibrös. Bei denselben Tieren sind die enorm vergrößerten Milzen in ein Gewebe umgewandelt, das wenig an die gewöhnliche Struktur der Milz erinnert. Zwischen den erweiterten, blutgefüllten Sinus ist das Gewebe an einigen Stellen zellreich, großzellig, mit vereinzelten Sternbergschen Zellen, an anderen Stellen dagegen von hyalinem und nekrotischem Aussehen mit reichlich eingelagerten Langhansschen Riesenzellen. Nekrosen sind sehr ausgebreitet in den Fällen No. 24 und 25. Beim Tier No. 21 zeigt die Milz mehr das Bild einer frischen Tuberkulose. Die Lungen zeigen in allen Fällen ausgebreitete Tuberkulose von gewöhnlichem Aussehen. In den Lymphdrüsen findet man teils nekrotische Tuberkeln, teils großzellige Hyperplasie mit Langhansschen und Sternbergschen Zellen. Die letztere Form herrscht vor.

Serie VI.

Meerschweinchen wurden subkutan mit 1 g Thymusemulsion und $\frac{1}{150}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus geimpft.

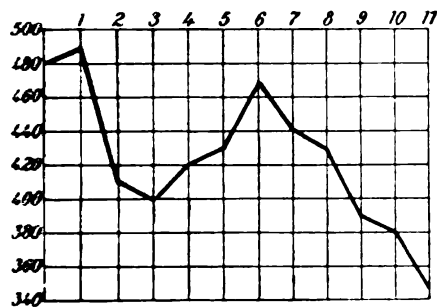
Tabelle XLVIII, 11.

No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
26	77	106,8	480	350	27,0	14,5	Impftuberkulose. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
27	91		490	390	20,4		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
28	105		460	400	16,3		Impftuberkulose. 15 ccm Ascites. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
29	119		440	400	9,0		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
30	142		350	380	0,0 (Zunahme = 30 g)		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.

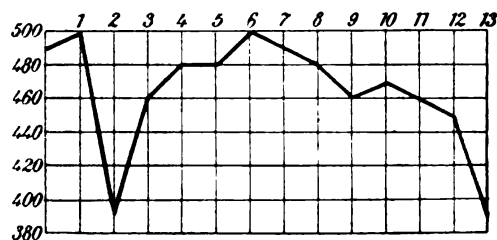
Mikroskopische Untersuchung: In allen Fällen Lebercirrhose von demselben Aussehen, wie es in Serie V beschrieben ist. Die Milzen zeigen gleichfalls dieselben Veränderungen. In den Lungen vorgeschrittene Tuberkulose. An der Injektionsstelle tuberkulöses Granulationsgewebe, nekrotische Stellen und fibröses Gewebe. Auch die Lymphdrüsen verhalten sich ebenso wie in Serie V im allgemeinen.

Tabelle XLVIII, 12.

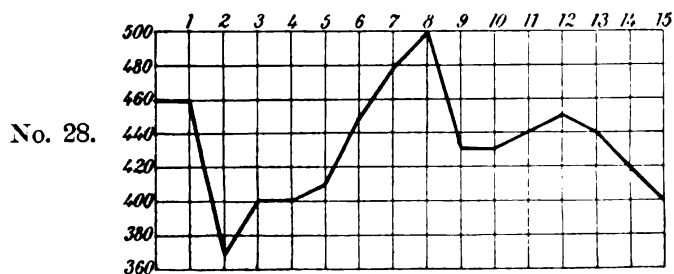
Die Gewichtsverhältnisse der Versuchstiere bei Impfung subkutan mit 1 g Kaninchenthymus und Tuberkelbacillen.



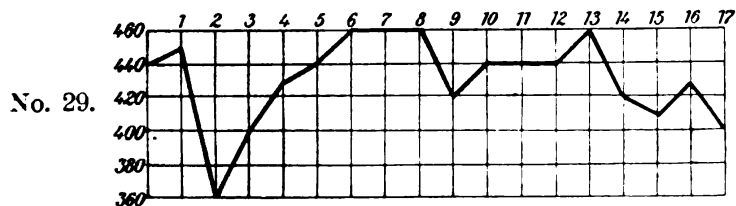
No. 26.



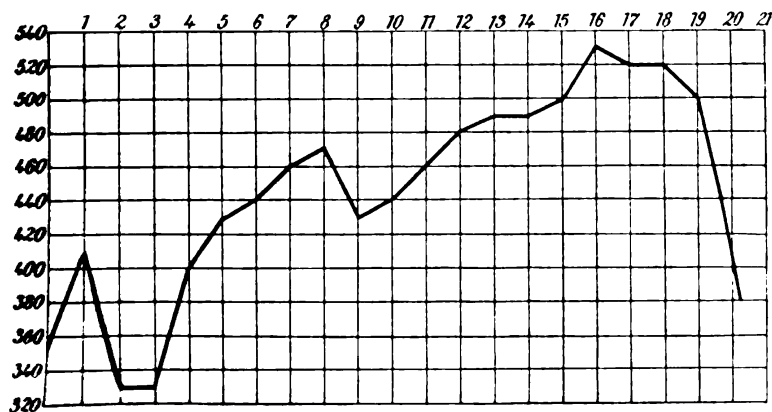
No. 27.



No. 28.



No. 29.



No. 30.

5*

Serie VII.

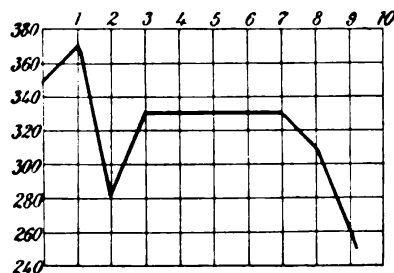
Meerschweinchen wurden mit 1_{50} mg Tuberkelbacillen des humanen Typus subkutan geimpft.

Tabelle XLVIII, 13.

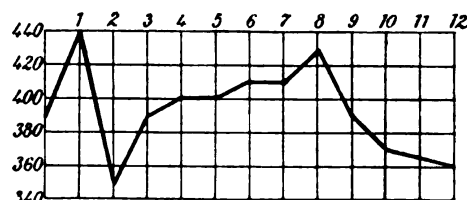
No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
31	66	92	350	250	28,5	17,2	Impftuberkulose. Beginnende Leber- cirrhose. Allgemeine Tuberkulose.
32	82		390	360	7,6		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Mäs- siger Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
33	98		500	440	12,0		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Milz- tumor. Allgemeine Tuberkulose.
34	103		460	370	19,5		Impftuberkulose. Lebercirrhose. Mäs- siger Milztumor. Allgemeine Tuberkulose.
35	111		570	480	18,4		Impftuberkulose. 15 ccm Ascites. Lebercirrhose. Milztumor. Allge- meine Tuberkulose.

Tabelle XLVIII, 14.

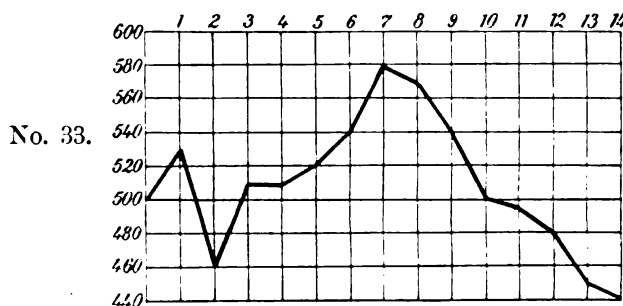
Die Gewichtsverhältnisse der Kontrolltiere bei Impfung subkutan mit
Tuberkelbacillen.



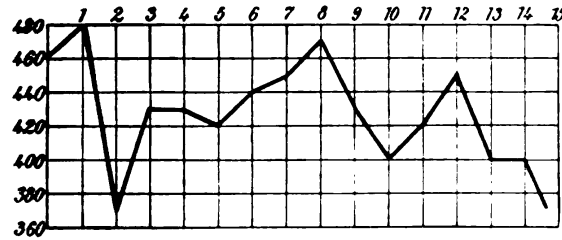
No. 31.



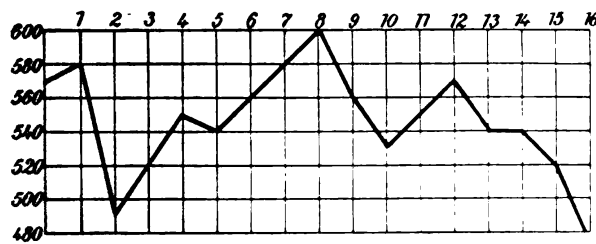
No. 32.



No. 33.



No. 34.



No. 35.

Mikroskopische Untersuchung: An der Impfstelle Nekrosen, tuberkulöses Granulationsgewebe und fibrös umgewandelte Stellen. Die Lebern im allgemeinen mehr oder weniger cirrhotisch, mehr bei den Tieren, die länger am Leben geblieben sind. Beim Meerschweinchen No. 31, das nur 66 Tage lebte, findet man auch ziemlich reichlich miliare und nekrotische Konglomerattuberkeln. Die Milzen ähneln vollständig denen, die in den Gruppen V und VI beschrieben worden sind. In den Lungen weit vorgeschrittene Tuberkulose. In einigen Lymphdrüsen nekrotische Tuberkeln, in anderen dagegen großzellige Hyperplasie.

Versuch XLIX.

Dieser Versuch wurde 14 Tage später mit demselben Tuberkelbacillensamm, obwohl mit der folgenden Generation, ausgeführt. Auch diese war 14 Tage alt. Im übrigen waren die Anordnungen die gleichen wie im vorigen Versuch.

Serie VIII.

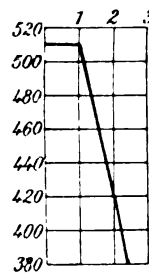
Meerschweinchen wurden mit 1 g polymorphkernigen Meerschweinchenleukocyten und $\frac{1}{100}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus intraperitoneal geimpft. 5 Tage danach wurden weitere 1 g Leukocyten derselben Art injiziert.

Tabelle XLIX, 15.

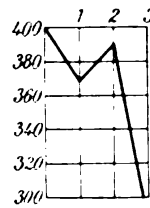
No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
36	17	25,2	510	380	25,4	26,1	Reichlich Tuberkeln auf dem Peri- toneum. Allgemeine Tuberkulose.
37	20		400	300	25		Tuberkulöse Peritonitis. Allgemeine Tuberkulose.
38	21		460	350	23,9		Tuberkulöse Peritonitis. Allgemeine Tuberkulose.
39	31		380	330	21		Tuberkulöse Peritonitis. 30 cem blutig gefärbte, trübe Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Allgemeine Tuber- kulose.
40	37		580	390	35,3		Reichlich Tuberkeln auf dem Peri- toneum. 15 cem Ascites. Allge- meine Tuberkulose.

Tabelle XLIX, 16.

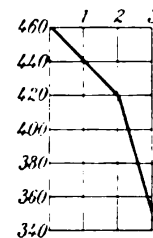
Die Gewichtsverhältnisse der Versuchstiere bei Impfung intraperitoneal mit 2 g polymorphkernigen Meerschweinchenleukocyten und Tuberkelbacillen.



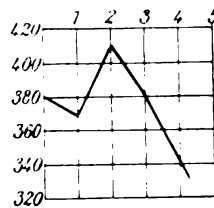
No. 36.



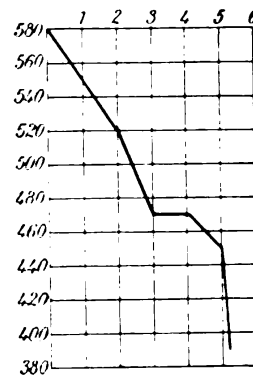
No. 37.



No. 38.



No. 39.



No. 40.

Mikroskopische Untersuchung: Bei den Tieren No. 37—39 zeigte die Tuberkulose auf dem Peritoneum eine exsudative Form; die Darmschlingen und das Peritoneum waren mit graugelben Membranen belegt, die leicht abzulösen waren und aus Fibrin und Leukocyten, meistens polymorphkernigen, bestanden. An Methylenblaupräparaten waren keine Bakterien im Exsudat zu sehen. Bei den beiden übrigen Meerschweinchen sind die Tuberkeln auf dem Peritoneum von gewöhnlichem Aussehen. Die Leber enthält in allen Fällen eine sehr reichliche Anzahl miliärer und kleinerer nekrotischer Konglomerattuberkeln. Das gleiche ist bei der Milz der Fall. In den Fällen No. 39 und 40, also den Tieren, die in dieser Gruppe am längsten gelebt haben, finden sich reichlich Langhanssche Riesenzellen, in den übrigen dagegen sind sie nur in geringer Zahl vorhanden. In den Lungen mehr oder weniger ausgebreitete Tuberkulose.

Serie IX.

Meerschweinchen wurden mit $\frac{1}{60}$ mg Tuberkelbacillen des humanen Typus intraperitoneal geimpft.

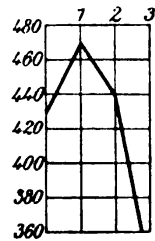
Tabelle XLIX, 17.

No.	Lebensdauer nach der Infektion Tage	Mittl. Lebens- dauer nach der Infektion Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichtsverlust in Proz.	Mittl. Gewichts- verlust in Proz.	Sektionsbefund
41	19	41,2	430	360	16,2	22,5	Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
42	19		400	360	10		Reichlich Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
43	50		580	400	31		Mäßige Menge Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.
44	51		560	380	34,8		In dem Oment reichlich, auf dem Peritoneum im übrigen vereinzelte Tuberkeln. 15 cem Ascites. Allgemeine Tuberkulose.
45	67		340	270	20,5		Vereinzelte Tuberkeln auf dem Peritoneum. Allgemeine Tuberkulose.

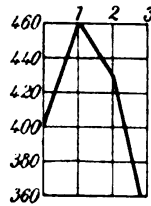
Mikroskopische Untersuchung: Auf dem Peritoneum Tuberkeln von gewöhnlichem Aussehen. In der Leber im allgemeinen reichlich frische Tuberkeln und Konglomerattuberkeln mit Nekrosen (Fig. 1). Bei dem Tier No. 44, das 51 Tage lebte, findet man eine Andeutung zur Cirrhose. Die Milzen zeigen das gewöhnliche Bild akut verlaufender Tuberkulose. In den Lungen eine mehr oder weniger vorgeschrittene Tuberkulose.

Tabelle XLIX, 18.

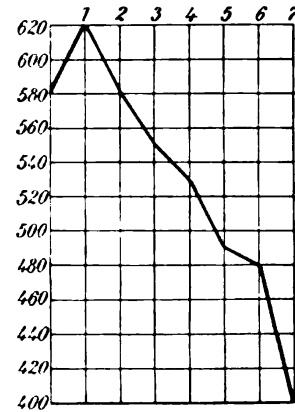
Die Gewichtsverhältnisse der Kontrolltiere bei Impfung intraperitoneal mit Tuberkelbacillen.



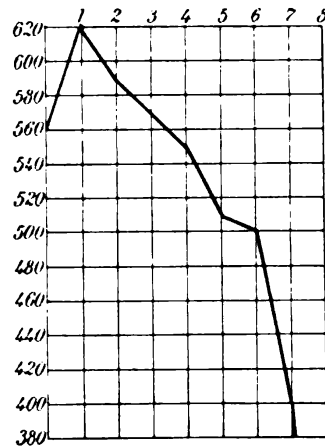
No. 41.



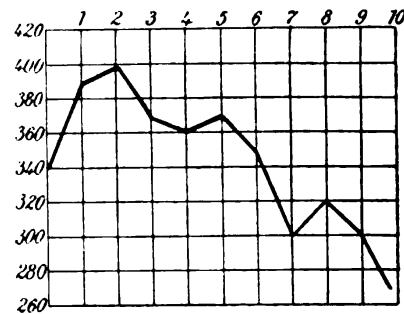
No. 42.



No. 43.



No. 44.



No. 45.

Rückblick auf die Versuchsergebnisse.

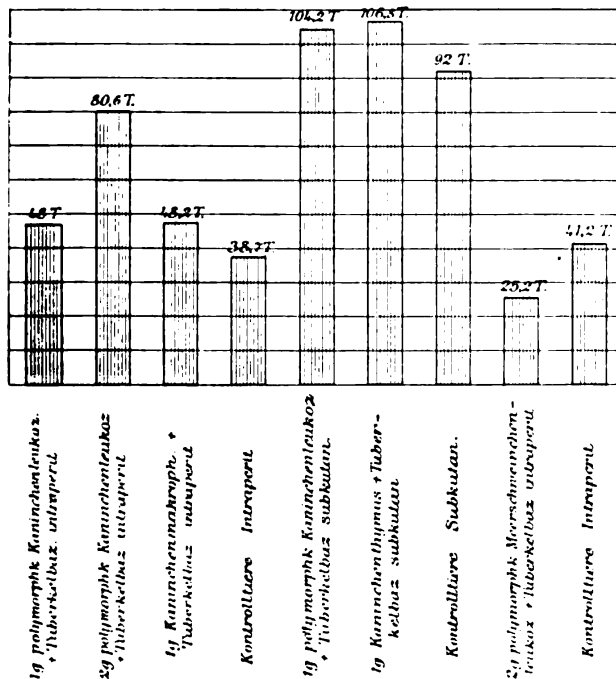
Um einen besseren Ueberblick über die Schlüsse zu erhalten, die aus diesen Versuchen gezogen werden können, ist es zweckmäßig, die Tabellen von besonderen Gesichtspunkten aus zu prüfen; sie gewähren uns Aufschluß über die Lebensdauer der Tiere nach der Infektion, ihre Gewichtsverhältnisse während des tuberkulösen Prozesses und die anatomischen Veränderungen, die der Tuberkelbacillus bei den einzelnen Tieren hervorgebracht hat. Wir können dadurch möglicherweise die Virulenz der Tuberkelbacillen in den einzelnen Fällen beurteilen.

1. Die Lebensdauer nach der Infektion. Betrachten wir Tabelle XLVIII, 7 und Tabelle XLIX, 17,

welche sich auf die intraperitoneal infizierten Kontrolltiere beziehen, so finden wir, daß die Mehrzahl derselben nach einer ziemlich kurzen Zeit starb; nur 2 von den Tieren erreichten eine etwas längere Lebensdauer mit bezw. 62 und 67 Tagen. Die mittlere Lebensdauer ist auch in den beiden Gruppen ziemlich die gleiche, nämlich in der ersteren 38,7 und in der letzteren 41,2 Tage. Siehe auch Tabelle XLIX, 19! Der Uebersicht-

Tabelle XLIX, 19.

Mittlere Lebensdauer der Versuchstiere nach der Infektion.



lichkeit wegen gebe ich eine graphische Darstellung der mittleren Lebensdauer in den verschiedenen Versuchsserien, obwohl ich mir völlig bewußt bin, daß eine Berechnung von Durchschnittszahlen auf Grund einer relativ so geringen Anzahl von Versuchstieren, wie sie bei meinen Versuchen zur Anwendung gekommen ist, nicht den Forderungen genügen kann, die die statistische Wissenschaft für eine solche aufstellt.

Die Tabelle XLVIII, 1 zeigt uns, daß von den Meer-schweinchen, denen Tuberkelbacillen nebst 1 g polymorph-kernigen Kaninchenleukocyten intraperitoneal injiziert wurden, drei bereits nach 26 Tagen starben; sie lebten demnach nicht länger als die Kontrolltiere im allgemeinen. Dagegen sind es zwei Tiere in dieser Gruppe, die die mittlere Lebensdauer der Kontrolltiere überschritten, und zwar das eine von ihnen beträchtlich; es erreichte ein Alter von 112 Tagen nach der Infektion. Es läßt sich daher annehmen, daß die Tuberkelbacillen in diesem Fall ihrer Virulenz nach abgeschwächt worden sind. Die durchschnittliche Lebensdauer beträgt in dieser Serie 48 Tage, übersteigt also mit 9,3 Tagen die der Kontrolltiere.

Deutlicher wird dagegen der Unterschied, wenn wir zur Serie II kommen, d. h. zu den Tieren, welche Tuberkelbacillen und 2 g Kaninchenleukocyten intraperitoneal erhielten. Hier sehen wir zwar eines von den Tieren bereits nach 35 Tagen sterben (Tabelle XLVIII, 3), die übrigen 4 aber lebten zwischen 72 und 139 Tage. Die mittlere Lebensdauer bei diesen Tieren ist also mehr als doppelt so lang als bei den Kontrolltieren. Hier handelt es sich offenbar um eine bedeutende Verminderung der Virulenz des Tuberkelbacillus.

Die Kontrolltiere in Serie VII, die mit Tuberkelbacillen subkutan auf dem einen Schenkel geimpft worden waren, lebten zwischen 66 und 111 Tage (Tabelle XLVIII, 13), durchschnittlich 92 Tage. Wir ersehen also hieraus, welche Bedeutung die Infektionsweise hat; durch die subkutane Einverleibung der Bacillen gestaltet sich der Krankheitsverlauf bedeutend langsamer, die mittlere Lebensdauer in dieser Serie übersteigt um 53,3 Tage die der intraperitoneal infizierten Tiere.

Betrachten wir nun die Verhältnisse bei den Meer-schweinchen, die subkutan infiziert worden sind, gleichzeitig aber 1 g Kaninchenleukocyten erhalten haben (Tabelle XLVIII, 9), so sehen wir, daß drei von diesen Versuchstieren nach ungefähr derselben Zeit gestorben sind wie die entsprechenden Kontrolltiere, eins sogar in kürzerer Zeit; die übrigen zwei in der Gruppe erreichen aber die ansehnliche Lebensdauer nach der Infektion von 134 und 158 Tagen. Hier

können wir, scheint es mir, mit einer Leukocytenwirkung rechnen, die nicht unbedeutend ist, wofür auch die Gewichtsverhältnisse sprechen, wie wir weiter unten sehen werden. Die Durchschnittszahl, 104,2 Tage, ist auch höher als die des Kontrolltieres, 92 Tage.

Was dagegen die mit Kaninchenmakrophagen behandelten Tiere in der Serie III betrifft, so geht aus Tabelle XLVIII, 5 — hervor, daß diese Tiere, abgesehen von dem Tier, das nach 13 Tagen starb, und das zwar Impftuberkulose, aber sonst keine Zeichen von Tuberkulose aufwies und daher bei der Berechnung der Durchschnittszahl nicht mitgenommen wurde, zwischen 39 und 61 Tage lebten, demnach im allgemeinen etwas länger als die Mehrzahl der Kontrolltiere. Die mittlere Lebensdauer ist hier auch höher, nämlich 48,2, also nahezu die gleiche wie in Serie I (1 g Kaninchenleukocyten intraperitoneal). Auch wenn der Unterschied zwischen der Lebensdauer der Makrophagen- und der Kontrolltiere nach der Infektion nicht besonders groß ist, so liegt meines Erachtens doch eine gewisse, wenn auch schwache Schutzwirkung der Makrophagen vor, die eine weitere Bestätigung durch die Gewichtsverhältnisse und die anatomischen Veränderungen erfährt, die weiter unten zu behandeln sein werden.

Wenden wir uns nun den Thymustieren zu, welche die mit Tuberkelbacillen infizierte Zellenemulsion subkutan erhielten, so sehen wir, daß diese im allgemeinen nach ungefähr derselben Zeit sterben wie die Kontrolltiere (Tabelle XLVIII, 11 und 13). Nur eines von diesen Versuchstieren erreicht ein Alter nach der Infektion, das in nennenswerterem Grade das Alter des in der Kontrollserie am längsten lebenden Tieres übersteigt. Die mittlere Lebensdauer bei den Thymustieren ist jedoch etwas größer als bei den Kontrolltieren, nämlich 106,8 Tage. Eine etwas abschwächende Einwirkung auf den Tuberkelbacillus könnte demnach auch hier angenommen werden, der Unterschied ist aber zu gering, als daß man daraus sichere Schlüsse ziehen könnte.

Betrachten wir endlich Tabelle XLIX, 15, die die Verhältnisse bei den mit Tuberkelbacillen und 2 g polymorphkernigen Meerschweinchenleukocyten intraperitoneal geimpften Meerschweinchen wiedergibt, so tritt uns das vielleicht un-

erwartete Ergebnis entgegen, daß diese Zellen ohne jede Spur von virulenzvermindernder Wirkung sind. Diese Tiere sterben sogar innerhalb kürzerer Zeit als die entsprechenden Kontrolltiere, nämlich nach durchschnittlich 25,2 Tagen. Diese Durchschnittszahl weicht demnach in bedeutendem Grade von der in Serie II, d. h. bei den Tieren ab, die dieselbe Menge Kaninchenleukocyten intraperitoneal erhalten haben. Offenbar sind die Kaninchenleukocyten den Meerschweinchenzellen bezüglich des Vermögens, auf den Tuberkelbacillus einzuwirken, bedeutend überlegen. Es ist dies um so bemerkenswerter, als die arteigenen Leukocyten, wie Pettersson gezeigt hat, im allgemeinen eine bessere bakterizide Wirkung gegen Milzbrandbacillen als die artfremden ausüben. Dieses Ergebnis steht in guter Uebereinstimmung mit der verschiedenen Resistenz des Kaninchens und des Meerschweinchens gegen Tuberkelbacillen des humanen Typus, und wir können daher wohl mit größter Wahrscheinlichkeit den Schluß ziehen, daß das Kaninchen in den polymorphkernigen Leukocyten eine wichtige Verteidigungswaffe gegen den Tuberkelbacillus besitzt, während die Zellen des Meerschweinchens weniger dazu geeignet sind.

2. Die Gewichtsverhältnisse. Die Tabellen zeigen uns, daß die intraperitoneal infizierten Tiere zur Zeit des Todes in allen Gruppen recht beträchtlich an Gewicht abgenommen

Tabelle XLIX, 20.

Serie	Impfmateriale	Mittlerer Gewichtsverlust in Proz.
1	Tuberkelbacillen + 1 g polymorphkernige Kaninchenleukocyten, intraperitoneal	33,8
2	Tuberkelbacillen + 2 g polymorphkernige Kaninchenleukocyten, intraperitoneal	31,8
3	Tuberkelbacillen + 1 g Kaninchenmakrophagen, intraperitoneal	30,4
4	Tuberkelbacillen, intraperitoneal	32
5	Tuberkelbacillen + 1 g polymorphkernige Kaninchenleukocyten, subkutan	20,5
6	Tuberkelbacillen + 1 g Thymusemulsion, subkutan	14,5
7	Tuberkelbacillen, subkutan	17,2
8	Tuberkelbacillen + 2 g polymorphkernige Meerschweinchenleukocyten, intraperitoneal	26,1
9	Tuberkelbacillen, intraperitoneal	22,5

haben. Der Durchschnittswert dieser Gewichtsverminderung in den Serien des ersten Versuchs hält sich ziemlich konstant, indem er zwischen 30,4 und 33,8 Proz. variiert; in dem zweiten Versuch wechselt er zwischen 22,5 und 26,1 Proz. (siehe Tabelle XLIX, 20), ist hier also deutlich geringer. Worauf dies beruhen kann, ist schwer zu sagen. Viele Momente können hierbei eine Rolle spielen. Wie wir oben gesehen haben, war auch die Lebensdauer bei den Kontrolltieren des letzten Versuchs im Durchschnitt etwas länger als bei denen des ersten. Möglich ist es ja, daß die letzteren Tiere mit einer geringeren Menge Bacillen infiziert worden sind. Trotz aller Genauigkeit muß man wohl doch mit einem gewissen Fehler bei der Wägung rechnen, und bei den kleinen Mengen von Bacillen, um die es sich hier handelt, kann dieser Fehler von nicht ganz unwesentlicher Bedeutung sein. Wyssokovicz, der den Einfluß untersuchte, welchen die Quantität der eingepfunden Tuberkelbacillen auf den Verlauf der Tuberkulose hat, konstatierte auch, daß, je geringer die Menge von Tuberkelbacillen ist, die injiziert wird, um so langsamer die Tuberkulose verläuft. Diese Verhältnisse, auf die ich hier hingewiesen habe, zeigen wiederum, wie notwendig es ist, bei Vergleichen wie den fraglichen mit äußerst exakt bestimmten Mengen Bacillen zu arbeiten. Im übrigen tritt innerhalb der intraperitoneal infizierten Gruppen keine so große Differenz zwischen ihnen hervor, daß man bestimmte Schlüsse ziehen könnte.

Dagegen sehen wir, daß die Tiere mit subkutaner Injektion in allen drei Serien durchschnittliche Gewichtsverluste aufweisen, die nicht unbedeutend geringer sind als die, welche in den übrigen Gruppen vorkommen. Wo die Tuberkulose einen mehr chronischen Verlauf nimmt, ist offenbar auch der Gewichtsverlust geringer. Bei den Thymustieren zeigt zwar der durchschnittliche Gewichtsverlust die niedrigste Ziffer, da diese niedrige Ziffer aber hauptsächlich dadurch bedingt ist, daß eines von den Tieren überhaupt keine Gewichtsabnahme aufwies (Tabelle XLVIII, 11), so wage ich daraus keinen Schluß bezüglich der Wirkung der Thymuszellen auf den Tuberkelbacillus zu ziehen.

Hat das Studium der totalen Gewichtsverluste bei den Versuchstieren keine besondere Ausbeute gegeben, so bieten

dagegen die Gewichtskurven um so größeres Interesse dar. Betrachten wir die Gewichtskurve der intraperitoneal infizierten Kontrolltiere (Tabelle XLVIII, 8 und XLIX, 18), so ersehen wir aus ihnen, daß die Tiere während der ersten Woche der Regel nach an Gewicht zunehmen, um dann mehr oder weniger rasch abzunehmen. Im großen und ganzen sind die Kontrolltierkurven der beiden Versuche einander recht ähnlich, doch scheint die Gewichtsabnahme im ersteren Fall rascher vor sich zu gehen als im letzteren, indem dort konstant ein bedeutender Gewichtsverlust schon zu Ende der zweiten Woche zu verzeichnen war. Möglicherweise kann dies auf denselben Umständen beruhen, die ich oben als Ursache für die Verschiedenheit des totalen Gewichtsverlustes beim Tode des Tieres supponiert habe.

Tabelle XLVIII, 2, auf die Tiere bezüglich, die 1 g Kaninchenleukocyten intraperitoneal erhalten haben, zeigt uns drei Kurven von den Tieren No. 1, 2 und 3 mit einer Lebenslänge von 26 Tagen, welche mit denen der Kontrolltiere übereinstimmen; die beiden anderen zeigen dagegen ein abweichendes Aussehen, was besonders beim Tier No. 5 hervortritt. Nach einer zu Beginn der zweiten Woche eintretenden Gewichtsabnahme steigt das Gewicht in der fünften Woche wieder und hält sich dann auf seiner Höhe bis zu Ende der 13. Woche, wonach es rasch abwärts geht.

Dieses Verhältnis findet sich bis auf eine Ausnahme durchgehend in der Serie II, d. h. bei den Meerschweinchen, die mit 2 g Kaninchenleukocyten intraperitoneal geimpft worden sind (Tabelle XLVIII, 4). Nach der Senkung der ersten Zeit steigt die Gewichtskurve der Tiere allmählich und hält sich dann längere oder kürzere Zeit oben. Die Kurve beim Tier No. 8 erhält ein von den übrigen nach dem Ende zu abweichendes Aussehen infolge der großen Flüssigkeitsansammlung in der Bauchhöhle, sonst ist sie im großen und ganzen den übrigen ähnlich. Außerdem zeigen diese Tiere ein anderes interessantes Verhältnis. Der Anstieg während der ersten Woche, den wir bei der Gewichtskurve der Kontrolltiere beobachteten, fehlt hier; bei diesen Meerschweinchen beginnt die Gewichtsabnahme sofort und vollzieht sich rasch. Offenbar haben wir es hier mit einem Plus bei der Giftwirkung zu tun,

und dieses Plus besteht wahrscheinlich aus den artfremden Leukocyten. Daß dies nicht in der vorigen Serie hervorgetreten ist, beruht wohl wahrscheinlich darauf, daß die Menge der Leukocyten dort nicht hinreichend gewesen ist, um so zum Ausdruck zu kommen.

Ein ganz anderes Aussehen weisen die Kurven der Tiere in Serie VIII (Tabelle XLIX, 16) auf, die mit 2 g Meerschweinchenleukocyten intraperitoneal geimpft worden sind. Das Gewicht geht hier im allgemeinen ziemlich rasch herunter. Auch hier sieht man nicht die Gewichtszunahme während der ersten Woche, sondern statt dessen eine Senkung, die jedoch nicht so rasch geschieht wie in der oben erwähnten Gruppe (Tabelle XLVIII, 4). Die Giftwirkung der Meerschweinchenleukocyten ist offenbar nicht so groß wie die der Kaninchenleukocyten.

Wenden wir uns nun den Tieren zu, welche Makrophagen erhalten haben (Tabelle XLVIII, 6), so sehen wir, daß auch ihre Kurven von denen der Kontrolltiere abweichen. Die Gewichtszunahme der ersten Woche fehlt auch hier im allgemeinen, was wohl gleichfalls durch die Giftwirkung der fremden Zellen verursacht ist; vielmehr verlieren sie während der beiden ersten Wochen recht sehr an Gewicht, um sich dann wieder zu erholen, wenn auch nur für kürzere Zeit, für einige Wochen. Besonders ist dies der Fall bei den Tieren No. 14 und 15, obwohl die Ascitesansammlung bei den ersteren einigermaßen dazu beiträgt, das Bild zu trüben. Eine wirkliche Gewichtszunahme hat indessen wohl auch hier stattgefunden; am Ende der 5. Woche, wo das Tier um 50 g nach der Abnahme der ersten Zeit zugenommen hatte, wurde noch kein Ascites beobachtet. Diesen Verhältnissen nach zu urteilen, dürfte man daher berechtigt sein, auch den Makrophagen eine virulenzvermindernde Wirkung zuzuschreiben, die vielleicht stärker hervorgetreten sein würde, wenn die injizierte Makrophagenmenge größer gewesen wäre.

Was ferner die Tiere betrifft, die subkutan infiziert worden sind (Tabelle XLVIII, 14), so sehen wir, daß die Kontrolltiere der Regel nach während der ersten Woche an Gewicht zunehmen, und daß in der zweiten eine starke Abnahme eintritt.

Die Gewichtskurve steigt dann wieder während einiger Wochen, die Zunahme überschreitet aber in keinem Fall die 8. Woche. Danach geht es mehr oder weniger rasch abwärts.

Bei den Meerschweinchen, wo die Infektion zusammen mit 1 g Kaninchenleukocyten subkutan geschehen ist (Tabelle XLVIII, 10), sind zwar drei von den Kurven ziemlich gleich denen der Kontrolltiere, bei zwei von ihnen finden wir aber einen ganz anderen Typus. Nach der Abnahme in der zweiten Woche sehen wir eine allmählich geschehende Zunahme, die in beiden Fällen bis zum Ende der 16. Woche fortfährt. Erst danach tritt eine ziemlich rasch verlaufende Gewichtsabnahme ein. Es ist wohl nicht undenkbar, daß wir in diesen Kurven einen Ausdruck für die Wirkung der polymorphkernigen Kaninchenleukocyten auf den Tuberkelbacillus haben. Doch läßt sich ja die Möglichkeit nicht ganz ausschließen, daß die Infektion bei diesen Tieren mit einer geringeren Bacillenmenge geschehen ist, und daß die Tuberkulose daher einen mildereren Verlauf genommen hat.

Die Gewichtskurven bei den Thymustieren (Tabelle XLVIII, 12) schließlich weichen bis auf eine Ausnahme nicht nennenswert von denen der Kontrolltiere ab. Dagegen sehen wir bei dem Meerschweinchen No. 30 einen Typus der Kurve, der den beiden zuletzt beschriebenen ähnelt. Was dort bezüglich der Ursache für die Form der Kurve gesagt worden ist, gilt wohl auch hier; es läßt sich ja denken, daß die Thymusemulsion in diesem Fall abschwächend auf die Tuberkelbacillen gewirkt hat. Im allgemeinen sind jedoch die Differenzen bezüglich der subkutan geimpften Tiere allzu gering, als daß man daraus bestimmte Schlüsse ziehen könnte. Weitere Versuche in größerem Maßstabe sind offenbar notwendig, um die tuberkelbacillentötende Wirkung der Lymphocyten festzustellen, und das gleiche gilt betreffs der Makrophagen. Eine derartige Untersuchung ist übrigens bereits im Gange.

3. Die anatomischen Veränderungen. Auch betreffs der pathologisch-anatomischen Veränderungen treten größere Verschiedenheiten zwischen den Serien der intraperitoneal geimpften Tiere als zwischen denen der subkutan in-

fizierten hervor. Schon an der Impfungsstelle gewahren wir bei den ersteren einen Unterschied. Während bei den Kontrolltieren im allgemeinen eine reichliche Aussaat von Tuberkeln auf dem Peritoneum vorhanden ist, kommen diese spärlicher bei zweien der Tiere vor, die 1 g Kaninchenleukocyten erhalten haben, sowie bei 4 von den 5, die mit 2 g geimpft worden sind. Bei den Makrophagenmeerschweinchen ist die Tuberkulose in der Bauchhöhle hauptsächlich auf einige große Geschwülste beschränkt. Ob dies auf mechanischen Momenten beruht, d. h. ob die Makrophagen sich zu größeren Klumpen, welche Tuberkelbacillen einschließen, zusammengeballt haben oder ob es eine Folge des Vermögens dieser Zellen ist, bis zu einem gewissen Grade die Tuberkulose zu begrenzen, läßt sich schwer sagen. Die letztere Alternative ist ja nicht unwahrscheinlich. Die Tiere dagegen, die mit Meerschweinchenleukocyten geimpft wurden, bekamen eine Tuberkulose, die im allgemeinen so akut verlief, daß sie die Form einer exsudativen Peritonitis annahm.

Ferner bieten die Veränderungen der Leber sehr interessante Verhältnisse dar. Bei den Kontrolltieren ist die Leber in der Mehrzahl der Fälle von einer reichlichen Menge größerer und kleinerer, typischer Tuberkeln durchsetzt (Fig. 1), bei 4 der Meerschweinchen dagegen, die 2 g Kaninchenleukocyten intraperitoneal bekamen, kommt eine Cirrhose tuberkulöser Natur vor, während deutliche Tuberkeln seltener sind. Auch 2 Tiere von denen, die nur mit 1 g Kaninchenleukocyten geimpft wurden, zeigen dieselben Veränderungen in der Leber (Fig. 2). Das gleiche ist der Fall bei 2 Makrophagenmeerschweinchen.

Daß Tuberkelbacillen Anlaß zu einer Cirrhose der Leber bei Versuchstieren geben können, ist von mehreren Forschern gezeigt worden. Ich will hier nicht auf alle diese Untersuchungen eingehen. In Stoerks Arbeit „Ueber experimentelle Lebercirrhose auf tuberkulöser Grundlage“ findet sich übrigens eine geschichtliche Uebersicht über diese Frage. Stoerk sagt selbst betreffs seines Materials, „daß sich die cirrhotischen Leberveränderungen fast ausnahmslos bei jedem mit Tuberkelbacillen infizierten Meerschweinchen eingestellt haben“. Doch fand er die ausgeprägtere Cirrhose in späteren

Stadien der Tuberkulose. Ferner ist es durch Untersuchungen von Grancher, Martin und Le Doux-Lebard nachgewiesen worden, daß minimale Mengen oder auf verschiedene Weise abgeschwächte Tuberkelbacillen eine Lebercirrhose bei den Versuchstieren verursachen. Auch Bartel faßt die Lebercirrhose als Ausdruck einer verminderten Virulenz des Tuberkelbacillus auf. Meinen eigenen Versuchen nach zu urteilen, scheint diese Hypothese richtig zu sein. Wenn die Tuberkulose mehr chronisch verläuft, tritt sie in der Leber hauptsächlich in der Form einer Cirrhose spezifischer Natur auf; davon zeugen die subkutan geimpften Kontrolltiere. Ich erachte mich daher für berechtigt, aus meinen Versuchen den Schluß zu ziehen, daß die polymorphkernigen Kaninchenleukocyten bei einer intraperitonealen Infektion das Vermögen besitzen, den Tuberkelbacillus so abzuschwächen, daß er in der Leber mehr das Bild einer tuberkulösen Cirrhose als eine typische Tuberkulose hervorruft.

Auch die Veränderungen der Milz gestalten sich verschieden bei den intraperitoneal infizierten Kontrolltieren einerseits und bei den Meerschweinchen, die mit 2 g Kaninchenleukocyten geimpft wurden, sowie den Makrophagentieren andererseits. Während bei den ersteren die Tuberkulose in diesem Organ die Form einer akuten Tuberkulose mit nekrotischen Tuberkeln angenommen hat, hat sie bei den beiden letzteren Gruppen im allgemeinen mehr das Aussehen einer großzelligen Hyperplasie. Es finden sich in diesen Milzen in geringer Anzahl Nekrosen, in reichlicherer dagegen Riesenzellen.

Zwischen den subkutan infizierten Tiergruppen besteht überhaupt kein Unterschied. Bei allen kommt Lebercirrhose vor, die Milzveränderungen sind ungefähr die gleichen und ebenso die Tuberkulose im übrigen.

Während ich mit der Bearbeitung des mikroskopischen Materials beschäftigt war, wurde durch eine Arbeit von Lichtenstein, die in nächster Zeit im Druck erscheinen wird, meine Aufmerksamkeit auf die Sternbergsche Tuberkuloseform gerichtet. Bei der näheren Prüfung, die wir von diesem Gesichtspunkt aus gemeinsam an meinem Material

anstellten, zeigte es sich, wie oben aus meiner mikroskopischen Beschreibung hervorgegangen ist, daß den von Sternberg geschilderten ähnliche Zellformen in einer ganzen Reihe von Fällen vorkommen. Besonders treten sie auf, wenn die Tuberkulose einen langsamen Verlauf annimmt und man demnach Anlaß hat, eine geringere Virulenz bei den Bacillen anzunehmen. In den Milzen der Makrophagentiere wurden sie, wie oben erwähnt, sehr reichlich angetroffen (Fig. 3 u. 4). Die Hypothese, die Sternberg aufgestellt hat, daß ein Tuberkelbacillus mit geringerer Virulenz sich als Ursache der von ihm beobachteten eigentümlichen Gewebsveränderungen denken ließe, scheint mir durch diese Untersuchungen eine sehr gute Stütze erhalten zu haben.

Alles in allem scheinen demnach die oben angestellten Studien über die Lebenslänge der Versuchstiere nach der Infektion, ihre Gewichtsverhältnisse und die anatomischen Veränderungen mit ziemlich großer Deutlichkeit dafür zu sprechen, daß die polymorphkernigen Kaninchenleukocyten auch intra vitam das Vermögen besitzen, den Tuberkelbacillus zu vernichten oder wenigstens abzuschwächen. Diese Ergebnisse und die der Reagenzröhrenversuche stehen demnach in guter Uebereinstimmung miteinander. Wie die Makrophagen und die Lymphocyten sich in dieser Hinsicht verhalten, bleibt noch eine offene Frage.

Wie hat man nun die verschiedenen Ergebnisse zu erklären, zu denen meine Untersuchungen und die Bartels und Neumanns geführt haben? Hauptsächlich beruhen sie wohl auf der Verschiedenheit der Methoden und Prinzipien, nach denen wir gearbeitet haben. Wie notwendig es ist, genau bestimmte Mengen sowohl von den Bacillen als von den Zellen anzuwenden, haben wir oben gesehen. Von welcher Bedeutung die Zellenquantität ist, geht aus den Serien I und II hervor. In letzterer, wo 2 g Kaninchenleukocyten injiziert wurden, trat ein bedeutend größerer Effekt zutage als in der Serie I,

6*

wo nur 1 g zur Anwendung kam. Daß Bartel und Neumann keine positiven Ergebnisse mit den polymorphkernigen Leukocyten erhalten haben, kann demnach sehr wohl darauf beruhen, daß sie mit zu kleinen Mengen Zellen im Verhältnis zu den Bacillen gearbeitet haben. Was dagegen ihre positiven Ergebnisse mit den Lymphocyten betrifft, so scheinen mir die Versuche mit diesen Zellen wenig beweiskräftig. Daß die Abschwächung der Tuberkelbacillen, welche sie beobachteten, nachdem diese im Reagenzröhrchen die lange Zeit von 22 Tagen hindurch mit der Lymphocytenemulsion bei Thermostatemperatur in Berührung gewesen waren, wirklich durch die Einwirkung seitens vitaler Produkte bedingt gewesen sei, erscheint mir zweifelhaft. Um mit Sicherheit die Rolle der Lymphocyten in dieser Hinsicht bestimmen zu können, ist es wohl notwendig, mit lebenden Zellen zu arbeiten.

VI. Zur Frage nach dem Ursprungsort des hämolytischen Komplements.

Ich will mich im folgenden noch kurz mit einer Frage beschäftigen, die etwas abseits von meinem eigentlichen Untersuchungsgebiete liegt. Bekanntlich ist Metschnikoff der Ansicht, daß das hämolytische Komplement von den Makrophagen her stammt, weshalb er auch diesen Stoff Makrocytase nennt. Da ich, wie aus dem Obigen zu ersehen ist, eine Methode gefunden habe, um in größerer Menge derartige Zellen zu erhalten, so erachtete ich es für interessant, das hämolytische Vermögen derselben zu prüfen, um möglicherweise dadurch einen Beitrag zur Lösung dieser für die Immunitätsforschung so wichtigen Frage liefern zu können.

Diese Hypothese Metschnikoffs, die Tarasséwitsch und Levaditi zu stützen gesucht haben, wurde bald von mehreren Seiten, besonders von Korschun und Morgenroth, angegriffen. Diese bestätigten freilich, daß Extrakte makrophagenhaltiger Organe hämolytische Wirkung besitzen, fanden aber, daß die hämolytischen Substanzen mit den Serumhämolysinen nicht identisch sein können. Die ersteren sind nämlich thermostabil, alkohollöslich, nicht komplex und lösen keine Antikörper-

bildung aus. Auch Donath und Landsteiner, sowie in der letzten Zeit Schneider und Weil verneinen, daß die Makrophagen hämolytisch wirkende Substanzen enthalten.

Versuch L.

1.5 g Makrophagen vom Kaninchen (99 Proz. mononukleäre und 1 Proz. polynukleäre Zellen) wurden durch Einfrieren und Auftauen in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert. Normalserum vom Kaninchen. 5-proz. Aufschwemmung von Hühnererythrocyten. Die Reagenzröhrchen wurden während der beiden ersten Stunden in einen Thermostat bei 37° C gestellt, die folgende Zeit über im Eisschrank aufbewahrt.

Inhalt der Röhren		Hämolyse	
		nach 1/4 Std.	nach 24 Std.
1 ccm Makrophagenextrakt	1 ccm Blutkörperchen	0	0
1 „ 1. Waschflüssigkeit	1 „ „	0	0
1 „ 2. „	1 „ „	0	0
1 „ Serum	1 „ „	deutlich	vollständig
1 „ physiol. Kochsalzlösung	1 „ „	0	0

Versuch L.I.

1 g Makrophagen vom Meerschweinchen (84 Proz. mononukleäre, 16 Proz. polynukleäre Zellen) wurden durch Einfrieren und Auftauen in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert. Normalserum vom Meerschweinchen. 5-proz. Aufschwemmung von Ziegenerythrocyten.

Inhalt der Röhren		Hämolyse	
		nach 1/4 Std.	nach 24 Std.
1 ccm Makrophagenextrakt	1 ccm Blutkörperchen	0	0
1 „ 1. Waschflüssigkeit	1 „ „	0	0
1 „ 2. „	1 „ „	0	0
1 „ Serum	1 „ „	deutlich	vollständig
1 „ physiol. Kochsalzlösung	1 „ „	0	0

Die Extrakte von Kaninchen-, Meerschweinchen- und Katzenmakrophagen zeigen demnach keine Spur einer hämolytischen Wirkung, trotzdem die große, von früheren Experimentatoren meines Wissens nicht erreichte Menge von bis zu 1,5 g pro 1 ccm zur Anwendung gekommen ist, während die entsprechenden Sera aktiv sind. Man könnte sich indessen denken, daß in dem Extrakt

Versuch LII.

1 g Katzenmakrophagen (85 Proz. mononukleäre und 15 Proz. polynukleäre Zellen) wurden durch Einfrieren und Auftauen in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert. Normalserum von Katze. 5-proz. Aufschwemmung von Kaninchen- und Meerschweinchenerythrocyten.

Inhalt der Röhren		Hämolyse	
		nach 2 Std.	nach 24 Std.
1,0 ccm Makrophagenextrakt	1 ccm Kaninchenblutkörperchen	0	0
1,0 „ 1. Waschflüssigkeit	1 „ dgl.	0	0
1,0 „ 2. „	1 „ „	0	0
1,0 „ 3. „	1 „ „	0	0
1,0 „ Serum	1 „ „	deutlich	vollständig
0,2 „ „ + 0,8 ccm Kochsalzlösung	1 „ „	„	„
0,1 „ „ + 0,9 ccm Kochsalzlösung	1 „ „	„	„
1,0 „ Kochsalzlösung	1 „ „	0	0
1,0 ccm Makrophagenextrakt	1 ccm Meerschweinchenblutkörperchen	0	0
1,0 „ 1. Waschflüssigkeit	1 „ dgl.	0	0
1,0 „ 2. „	1 „ „	0	0
1,0 „ 3. „	1 „ „	0	0
1,0 „ Serum	1 „ „	deutlich	vollständig
0,8 „ „ + 0,8 ccm Kochsalzlösung	1 „ „	„	„
0,1 „ „ + 0,9 ccm Kochsalzlösung	1 „ „	„	„
1,0 „ Kochsalzlösung	1 „ „	0	0

so kleine Mengen hämolytischen Komplements vorkommen, daß ihre Wirkung erst hervortritt, wenn die roten Blutkörperchen sensibilisiert worden sind. Morgenroth und Sachs haben nämlich gefunden, daß zur Hervorrufung der Hämolyse bei Gegenwart großer Mengen Ambozeptoren nur eine geringe Menge Komplement notwendig ist und umgekehrt, daß also der hämolytische Ambozeptor und das Komplement im großen und ganzen in umgekehrtem Verhältnis zueinander stehen. Ich versuchte mir daher ein Serum zu verschaffen, das an hämolytischen Ambozeptoren reich war, und immunisierte zu diesem Zweck ein Kaninchen mit gewaschenen Hühnererythrocyten. Die Stärke des erhaltenen Serums wurde durch folgenden Versuch geprüft. Als Komplement wurde Meerschweinchenserum angewandt.

Versuch LIII.

Inhalt der Röhren ¹⁾			Hämolyse		
Immunserum	Meerschweinchen-serum	5 Proz. Hühnerblutkörperchen	nach $\frac{1}{2}$ Std.	nach 2 Std.	nach 24 Std.
0,2 ccm	0,05 ccm	1 ccm	deutlich + Agglutinat. dgl.	vollständig dgl.	vollständig dgl.
0,1 "	0,05 "	1 "	"	"	"
0,05 "	0,05 "	1 "	"	"	"
0,01 "	0,05 "	1 "	"	"	"
0,002 "	0,05 "	1 "	spurenweise	"	"
0,001 "	0,05 "	1 "	"	"	"
1 ccm Kochsalzlösung	0,05 "	1 "	0	0	0
1 ccm dgl.	1 ccm Kochsalzlös.	1 "	0	0	0

Wir ersehen also aus dieser Tabelle, daß 0,05 ccm Meer-schweinchen-serum zusammen mit 0,01 ccm Immunserum schon nach einer halben Stunde eine deutliche Hämolyse zu bewirken vermag, die nach 2 Stunden vollständig ist. Nach 2 Stunden tritt auch eine Hämolyse bei der Verdünnung 0,001 hervor. Das Immunserum besitzt also einen ziemlich guten Gehalt an Ambozeptoren. Unmittelbar nach dieser Prüfung der Stärke des Immunserums wurde der nächste Versuch gemacht.

Versuch LIV.

0,75 g Kaninchenmakrophagen (90 Proz. mononukleäre, 10 Proz. polynukleäre Zellen) wurden in 1,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert. Immunserum wurde in einer Stärke gleich dem Fünffachen der nach $\frac{1}{2}$ Stunde lösenden Dosis, also 0,05 ccm, angewendet.

Inhalt der Röhren			Hämolyse	
Immunserum	Komplement	5 Proz. Hühnerblutkörperchen	nach 2 Std.	nach 24 Std.
0,05 ccm	1 ccm Makrophagen-extrakt	1 ccm	0, Agglutination dgl.	0, Agglutination dgl.
0,05 "	0,2 ccm dgl.	1 "	"	"
0,05 "	0,1 "	1 "	"	"
0,05 "	0,05 " Meersch.-Serum	1 "	vollständig	vollständig
1 ccm Kochsalzlösung	0,05 ccm dgl.	1 "	0	0
1 ccm dgl.	1 ccm Kochsalzlös.	1 "	0	0

1) Die Röhren wurden mit physiologischer Kochsalzlösung nachgefüllt, so daß der ganze Flüssigkeitsinhalt 3 ccm betrug.

Auch bei dieser Versuchsanordnung, wo also 0,05 ccm Meerschweinchenkomplement hinreichend war, um eine Hämolyse zu erhalten, erwies sich das Makrophagenextrakt als wirkungslos.

Wenn auch die obigen Versuche direkt gegen die Richtigkeit der Metschnikoffschen Hypothese sprechen, so läßt sich doch wohl nicht ohne weiteres der Schluß ziehen, daß die Makrophagen kein hämolytisches Komplement besitzen. Was im vorhergehenden bezüglich des bakteriziden Vermögens der Makrophagen in der Reagenzröhre gesagt worden ist, gilt auch hier. Die Frage bedarf offenbar einer weiteren Prüfung.

VII. Zusammenfassung.

1) Die bakterientötenden Substanzen (Endolysine) der polymorphkernigen Leukocyten werden aus dem Protoplasma freigemacht, wenn die Zellen eine halbe Stunde lang bei 50° C in Bouillon, bei 37—38° C in schwacher Salzsäure- oder Natronlauge digeriert oder wiederholtem Einfrieren und Auftauen ausgesetzt werden. Dagegen hat es sich als unmöglich erwiesen, bei sonst gleicher Versuchsanordnung subtilis- und typhusbacillentötende Flüssigkeiten durch Digestion der Leukocyten während einer halben Stunde bei 37—38° in Bouillon, physiologischer Kochsalzlösung oder 5-proz. inaktiviertem Serum zu erhalten.

2) Die auf den Subtilisbacillus wirkenden Endolysine vertragen eine halbstündige Erhitzung auf 65° C, ohne nennenswert geschädigt zu werden; erst nach einer gleichlangen Erhitzung auf 75° C sind sie inaktiviert.

Die Endolysine können im Tageslicht bei Zimmertemperatur oder im Dunkeln bei 37° C eingetrocknet und in getrocknetem Zustande eine

halbe Stunde lang auf ungefähr 100° C erhitzt werden, ohne zerstört zu werden; die Serumbakteriolysine widerstehen zwar einer Eintrocknung gleicher Art, sind aber nach einer solchen Erhitzung auf 100° C inaktiviert (Subtilis- und Milzbrandbacillus).

Die subtilisbacillentötenden Endolysine gehen nicht durch ein Pukallsches Filter hindurch, während die Serumbakteriolysine dies tun.

Die gegen den Subtilis-, Milzbrand- und Typhusbacillus wirksamen Endolysine werden durch Röntgenstrahlung geschädigt, die Serumbakteriolysine sind resistent.

Die Endolysine können nicht mit Aether extrahiert werden, kommen aber ungeschädigt in dem Rückstand nach der Aetherextraktion vor; die Serumbakteriolysine werden dagegen durch Aetherbehandlung zerstört (Subtilis- und Milzbrandbacillus).

3) Die Wirksamkeit des inaktivierten Kaninchenleukocytenextrakts gegen *Bacillus subtilis* kann durch kleine Mengen nativen Kaninchenleukocytenextrakts wiederhergestellt werden. Ebenso kann das inaktivierte Kaninchennormalserum oder das unwirksame Meerschweinchen- serum durch kleine Mengen Kaninchen- bzw. Meerschweinchenleukocytenextrakt komplettiert werden. Auch das inaktivierte Meerschweinchenleukocytenextrakt kann durch Zusatz kleiner Mengen Kaninchennormalserum aktiv gemacht werden.

4) Extrakt von polymorphkernigen Kaninchen-, Meerschweinchen- und Katzenleukocyten vermag im Reagenzgläschen die tuberkelbacillen- ähnlichen Bakterien, den *Timotheebacillus*, den *Grasbacillus* II, Korns säurefesten *Bacillus* I und *Rubners Butterbacillus* zu töten.

Auch gegenüber dem *Bacillus tuberculosis* Arloing, Typus humanus, hat das Kaninchenleukocytenextrakt eine bakterizide Wirkung.

Extrakt von Kaninchen-, Meerschweinchen- und Katzenmakrophagen entbehrt das Vermögen, die fraglichen säurefesten Bakterien im Reagenzgläschen zu vernichten.

Das Gleiche gilt für Kaninchenthymus-extrakt.

Die lebenden polymorphkernigen Kaninchenleukocyten, dem Meerschweinchen eingepflicht, üben auf Tuberkelbacillen des humanen Typus eine virulenzvermindernde Wirkung aus.

Die Meerschweinchenleukocyten besitzen nicht diese Eigenschaft.

Aus den vorliegenden Versuchen lassen sich keine sicheren Schlüsse betreffs der Einwirkung der lebenden Makrophagen und Lymphocyten auf den Tuberkelbacillus ziehen. Doch scheint es, als wenn auch die Kaninchenmakrophagen im Besitze einer Schutzwirkung gegenüber dem Tuberkelbacillus sind.

Bei den mit Tuberkelbacillen des humanen Typus infizierten Meerschweinchen und besonders bei den Tieren, wo die Tuberkulose einen mehr chronischen Verlauf angenommen hat, und wo demnach Anlaß zu der Annahme vorliegt, daß der Tuberkelbacillus eine geringere Virulenz gehabt hat, sind Gewebsveränderungen angetroffen worden, die in auffallendem Grade den von Sternberg beschriebenen ähneln.

5) Das nach der Buchnerschen Methode dargestellte Extrakt von Kaninchen-, Meerschweinchen- und Katzenmakrophagen wirkt nicht hämolytisch auf Hühner-, Ziegen-, Kaninchen- oder Meerschweinchenerythrocyten. Auch werden die sensibilisierten Hühnererythrocyten nicht von Kaninchenmakrophagenextrakt aufgelöst.

Literaturverzeichnis.

- d'Amore, Giorn. Intern. d. Scienze Med., No. 11. Zitiert nach Baumgartens Jahresb., 1906, p. 526.
 Bail, O., Arch. f. Hyg., Bd. 30 und 32.
 — Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 33.
 — und Pettersson, ebenda, Bd. 33.
 Bartel und Neumann, ebenda, Bd. 40, p. 518 u. 723.
 Bartel, Probleme der Tuberkulosefrage, Leipzig und Wien 1909.
 v. Behring, Beitr. z. experim. Therapie, 1905, Heft 10.
 Bitter, H., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12.
 Bordet, J., Ann. de l'Institut Pasteur, 1897.
 Borrel, A., ebenda, 1893.
 Broden, A., Arch. de Méd. expér., 1892.
 Buchner, H., Münch. med. Wochenschr., 1894.
 — Arch. f. Hyg., Bd. 17.
 Cantacuzène, J., Compt. rend. Soc. Biol., No. 31.
 Christmas, M. J., Ann. de l'Institut Pasteur, 1891, p. 487.
 Conradi, H., Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 1, p. 193.
 Dembinski, Ann. de l'Institut Pasteur, 1899.
 Denys et Havet, La Cellule, T. 10.
 — et Kaisin, ebenda, T. 9.
 — et Leclef, ebenda, T. 11.
 Donath und Landsteiner, Wien. klin. Rundschau, 1902, No. 40.
 v. Dungern und Coca, Berl. klin. Wochenschr., 1908, p. 348.
 Däubler, C., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 25.
 Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1900, No. 31.
 Forssell, G., Förh. vid Nord. Kir. För., 8^e möte, Helsingfors 1909.
 Friedberger, E., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 46.
 Gengou, Ann. de l'Institut Pasteur, 1901.
 Grancher, Martin et Le Doux-Lebard, Compt. rend. Soc. Biol., T. 43, 1891.
 Grawitz, Münch. med. Wochenschr., 1904, p. 2162.
 Gruber, ebenda, 1901, p. 1965.
 — und Futaki, ebenda, 1907, p. 249.
 Hahn, E. H., Arch. f. Hyg., Bd. 25.
 Hammar, J. A., Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt., 1907.
 Hankin, E. H., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 12 und 14.
 — ebenda, Bd. 9.
 Havet, J., La Cellule, T. 10.
 Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exper. Ther. zu Frankfurt a. M., 1907. Zitiert nach v. Dungern und Coca.
 Heile, Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. 55.
 Heineke, H., Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 48; 1904, No. 18.
 — Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie, Bd. 78.
 Helber und Linser, Deutsch. Arch. f. klin. Medizin, Bd. 83.

- Hölscher, Münch. med. Wochenschr., 1901, No. 38.
 Kanthack und Hardy, Proc. of the Royal Soc. London. Vol. 52, 1892.
 Koch, Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 2, 1884.
 Kohsaku Nunokawa, Arch. f. Hyg., Bd. 71.
 Korn, O., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 25 und 27.
 Korschun, C. V., Ann. de l'Institut Pasteur, 1908, p. 586.
 — und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 37.
 Kostenitch et Volkow, Arch. de Méd. expér., 1892.
 Kossel, A., du Bois-Reymonds Arch. f. Physiol., 1893, p. 164.
 Krause und Ziegler, Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen,
 Bd. 10.
 Kyes und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 2—4.
 Lambotte et Stiennon, Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 40.
 Landsteiner, K., ebenda, Bd. 25.
 — und Jagic, Münch. Med. Wochenschr., 1904, No. 27.
 — und v. Eisler, Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 31.
 Laschtschenko, P., Arch. f. Hyg., Bd. 37.
 Lazar, E., Wien. klin. Wochenschr., 1903, p. 489.
 Liebermann, Biochem. Zeitschr., Bd. 4, 1907.
 Livingood, L. E., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 23, p. 980, 1002, 1043.
 Löwenstein, E., Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 43.
 Markl, Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 38.
 Mayer, G., ebenda, Bd. 26.
 Metschnikoff, Ann. de l'Institut Pasteur, T. 3, 1889.
 — Ergebn. d. allgem. Pathol., Lubarsch und Ostertag, Bd. 11.
 — Virch. Arch., Bd. 113.
 Moëller, A., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 25.
 Morgenroth und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 27.
 Mosse und Milchner, Münch. med. Wochenschr., No. 45 u. 49.
 Much, H., Mitteil. a. d. Hamburger Staatskrankenanst., Bd. 8.
 Müller und Jochmann. Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 31.
 Noguchi, H., Proc. of the Soc. f. experim. Biol. and Medicin New York,
 Vol. 4, No. 3.
 Opie, E., The Journ. of exper. Med., Vol. 10, p. 419.
 Perthes, Deutsche med. Wochenschr., 1904, No. 17 u. 18.
 Pettersson, A., Arch. f. Hyg., Bd. 43.
 — Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 35, 40, 42, 45, 46, 50, 53.
 — diese Zeitschr., Bd. 1.
 Pirenne, Th., Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 36.
 Rudberg, H., Dissert. Upsala, 1909, und Arch. f. Anat. u. Phys., Anat.
 Abt., 1907.
 Schattenfroh, A., Arch. f. Hyg., Bd. 31 und 35.
 Schmidt-Nielsen, Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol., Bd. 8.
 Schneider, R., Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 10.
 — Arch. f. Hyg., Bd. 70.
 Sternberg, C., Zeitschr. f. Heilk., Bd. 19.



Fig. 1.

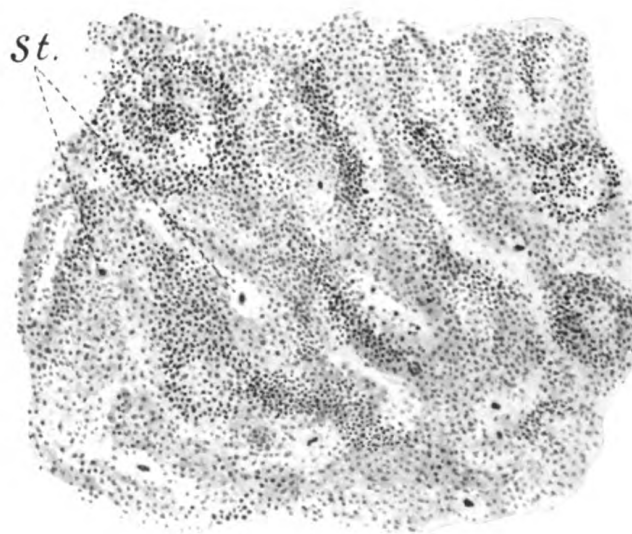


Fig. 3.

C. A. Kling, Bakterizide Eigenschaften der weißen Blutkörperchen.



Fig. 2.

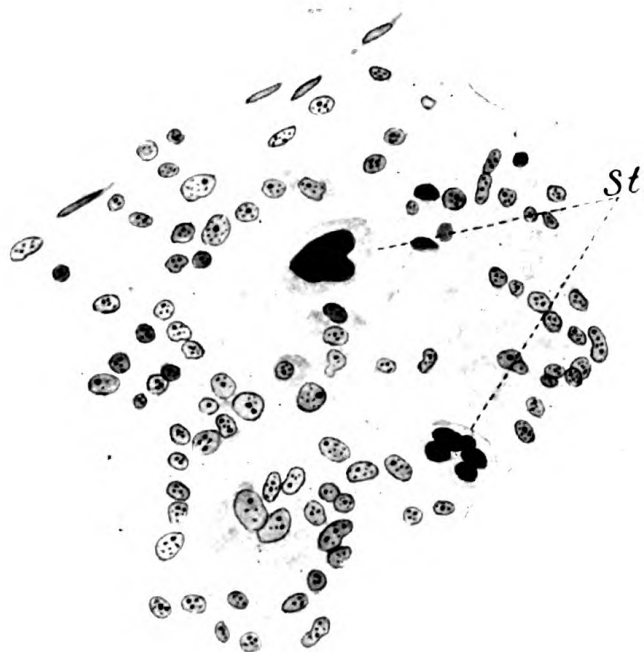


Fig. 4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

- Stöhr, P., Lehrb. d. Histol., 1909.
 Stoerk, Festschr. VI. Intern. Tuberkulosekonferenz, Wien 1907.
 Tarasséwitsch, Ann. de l'Institut Pasteur, 1902, p. 127.
 Toyosymi, Arch. f. Hyg., Bd. 71.
 Trommsdorff, R., ebenda, Bd. 40.
 Tsuda, K., ebenda, Bd. 71.
 Vaughan and Mc Clintock, Med. News, 1893. Zitiert nach Hahn.
 Van de Velde, H., La Cellule, T. 10.
 — Centralbl. f. Bakteriolog., Bd. 23.
 Vedder, Journ. of med. Res., Vol. 9, 1903. Zitiert nach Böhm e, Handb. d. Techn. u. Met. d. Immun., 1909, p. 444.
 Weil, E., Arch. f. Hyg., Bd. 70 und 71.
 — und Toyosumi, ebenda, Bd. 71.
 Werbitski, F. W., ebenda, Bd. 70.
 Wolff und Torday, Berl. klin. Wochenschr., 1904, p. 1273.
 Wyssokowicz, W., Verhandl. d. X. Intern. mediz. Kongr., Berlin 1890, Bd. 2, Abt. III.

Figurenerklärung.

Fig. 1. Leber mit frischen Tuberkeln (*T*) vom Meerschweinchen. Intraperitoneale Impfung mit $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen, Tod nach 19 Tagen. 5-proz. Formalinlösung. Häm. Eosin. Zeiss' Apochrom. 16 mm. Komp.-Ok. 4.

Fig. 2. Leber mit ausgesprochener Cirrhose vom Meerschweinchen. Intraperitoneale Impfung mit $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen und 1 g polymorphkernigen Kaninchenleukocyten, Tod nach 112 Tagen. Granulationsgewebe (*Gr.*) mit Langhansschen Riesenzellen (*L.*). 5-proz. Formalinlösung. Häm. Eosin. Zeiss' Apochrom. 16 mm. Komp.-Ok. 4.

Fig. 3. Milz mit zahlreichen Sternbergschen Riesenzellen (*St.*) vom Meerschweinchen. Intraperitoneale Impfung mit $\frac{1}{50}$ mg Tuberkelbacillen und 1 g Kaninchenmakrophagen, Tod nach 41 Tagen. 95-proz. Alkohol. Häm. Eosin. Zeiss' Apochrom. 16 mm. Komp.-Ok. 6.

Fig. 4. Dasselbe wie Fig. 3. Zeiss' Apochrom. Immersion 2 mm. Komp.-Ok. 6. Tub. 16 mm.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

VIII. Mitteilung.

Die quantitativen Beziehungen bei der Anaphylatoxinbildung¹⁾.

Von

Prof. Dr. **E. Friedberger**

und

Dr. **Carlo Vallardi**,

Assistent an der Klinik für Gewerbekrankheiten (Prof. L. Devoto) Mailand.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Mai 1910.)

Trotz des intensiven Studiums, das das Anaphylaxieproblem erfahren hat und trotz einer Fülle von neuen Tatsachen, die die Forschung hier ans Licht förderte, blieb das Wesen der Ueberempfindlichkeit zunächst völlig dunkel und das Phänomen war scheinbar ohne Analogie in der Immunitätslehre. Erst Friedberger zeigte den natürlichen Zusammenhang der Anaphylaxie mit den übrigen Immunitätsphänomenen, indem er sie als einen Spezialfall längst bekannter Antikörperreaktionen als eine Antigen-Antikörperreaktion in vivo unter Freiwerden giftiger Reaktionsprodukte erkennen lehrte. Doerr und Russ deuten ihre im Anschluß daran veröffentlichten Versuche, in denen sie einen Parallelismus zwischen Präzipitingehalt und Präparierungsfähigkeit ihrer Sera für passive Anaphylaxie fanden²⁾, selbst dahin, daß sie eine Bestätigung der Theorie

1) Die Resultate dieser Arbeit sind zum Teil vorgetragen in der Sitzung der Berl. Physiolog. Gesellschaft am 4. März 1910 (Med. Klinik, 1910, No. 13), ausführlicher auf der IV. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie (19. Mai 1910).

2) Anmerkung bei der Korrektur: Nach neueren Untersuchungen, die ich in Gemeinschaft mit Castelli an Kaninchenseris angestellt habe und nach analogen Versuchen, die Burckhardt unter meiner Leitung mit Meerschweinchenseris ausgeführt hat, ist, wie auch Haendel und Steffenhagen gezeigt haben, der Parallelismus keineswegs in allen Fällen vor-

Friedbergers bilden. Auch Pfeiffer und Mita schließen sich dieser Theorie an, die, wie sie betonen, den am besten fundierten Erklärungsversuch für die Anaphylaxie darstellt.

handen; wir haben Sera von ganz gleichem hohen Präzipitingehalt gesehen, von denen einzelne nicht passiv präparierten. Wichtiger aber noch ist die Tatsache, daß beim Vergleich verschiedener Sera der für die passive Anaphylaxie präparierende Wert in seinem scheinbaren Verhältnis zum Präzipitationstiter abhängig ist von der zur passiven Präparierung eingespritzten Dosis. Wir sehen z. B. bei Verwendung einer bestimmten Dosis zur Präparierung Präzipitinwert und anaphylaktischen Titer im Sinne von Doerr und Russ parallel gehen. Nimmt man aber eine größere oder kleinere Dosis des Antiserums zur Präparierung, so präpariert unter Umständen das schlechter präzipitierende Serum besser. Wie ist das zu erklären?

Wie ich schon in der VI. Mitteilung über Anaphylaxie mit Castelli hervorgehoben habe, beruht auch die Eignung der Sera zur passiven Präparierung auf ihrem gleichzeitigen Gehalt an Antikörper und Antigenresten. Wenn nun ein Serum viel Antikörper (der als Präzipitin gemessen werden kann) und relativ wenig Antigenrest enthält, so ist es klar, daß von einer gewissen Dosis ab das Serum nicht mehr zur passiven Anaphylaxie präpariert, trotz seines noch hohen Antikörpergehaltes. Andererseits kann bei derselben Dosis ein schlechter präzipitierendes Antiserum besser zur passiven Anaphylaxie präparieren, weil es neben den zwar geringeren, aber immer noch genügenden Antikörpermengen mehr Antigenrest enthält.

Auf diese Weise dürften sich auch die auf dem Mikrobiologen-Kongreß mitgeteilten interessanten Befunde von Haendel und Steffenhagen erklären lassen. Sie fanden, daß die Minimaldosis für die passive Präparierung bei einem hoch präzipitierenden Serum nicht tiefer zu liegen braucht als bei einem nieder präzipitierenden. Ich möchte auch das darauf zurückführen, daß man eben selbst bei einem stark präzipitierenden Serum nicht unter eine Menge heruntergehen darf, bei der nicht mehr ein genügender Antigenrest vorhanden ist.

Durch diese Feststellungen soll keineswegs die Richtigkeit der Befunde von Doerr und Russ angezweifelt werden. In der Mehrzahl der Fälle sind ja die Sera, die einen hohen Antikörpergehalt haben (entsprechend dem üblichen Immunisierungsschema), durch wiederholte Injektionen größerer Antigenmengen bereitet und enthalten dementsprechend auch mehr Antigenreste. Mit solchen Seris erhalten wir dann innerhalb gewisser Breiten regelmäßig den von Doerr und Russ beobachteten Parallelismus. Nur darf man daraus nicht, wie es Doerr und Russ getan haben, schließen, daß allein der Antikörpergehalt eines Serums einen absoluten Maßstab gibt für seine Eignung zur passiven Präparierung.

Dadurch verliert freilich ein seither als wichtig angesehenes Argument für die Theorie der Anaphylaxie seine Beweiskraft, ohne daß doch die im übrigen so wohl fundierte Antigen-Antikörper-Theorie dadurch erschüttert wird.

(F.)

Die als notwendige Konsequenz der Antikörper-Antigen-Theorie von Friedberger bereits in seiner I. Mitteilung erkannte Bedeutung des Komplements bei der Anaphylaxie ist zum erstenmal experimentell auf Grund der Versuche über den konstanten Komplementschwund von Friedberger und Hartoch einwandfrei bewiesen und in ihrer Beziehung zur Anaphylaxie festgelegt worden.

In einer neuerlich erschienenen Arbeit versucht Sleeswijk gewisse Prioritätsansprüche zu erheben. Das erscheint uns schwer verständlich. Sleeswijk hatte, allerdings ohne genaue quantitative Versuchsanordnung, eine Komplementverarmung bei der Anaphylaxie konstatiert, Beobachtungen, wie sie zuerst in vivo Moreschi, und speziell im Zusammenhang mit der Anaphylaxie Michaelis und Fleischmann erhoben haben. Aber den Zusammenhang der Komplementverarmung mit der Anaphylaxie hat Sleeswijk nicht nur anfangs nicht anerkannt, sondern gerade das Gegenteil von dem angenommen, was tatsächlich zutrifft, nämlich, „daß die Vergiftungserscheinungen nicht die Folge des Alexinverlustes sind“.

Erst neuerdings schließt sich der Autor hier auf Grund späterer mit der Versuchsanordnung von Friedberger und Hartoch angestellter Versuche unseren Anschauungen an.

Die Befunde Friedbergers bezüglich des Komplements haben gleichfalls zuerst durch Doerr und Russ eine Bestätigung erfahren, die sich „dieser Auffassung als einer natürlichen Konsequenz der Präzipitintheorie anschließen“. Als ein wesentliches Argument für die essentielle Rolle des Komplements durften wir die prophylaktische Wirkung konzentrierter Salzlösung bei der aktiven und passiven Anaphylaxie betrachten ¹⁾.

Neben diesem indirekten Beweis für die Bedeutung des Komplementes bei der Anaphylaxie haben wir aber auch ganz andere und schwerer wiegende direkte Beweise.

1) Anmerkung bei der Korrektur. Daß diese Wirkung der konzentrierten Kochsalzlösung nicht etwa auf dem gleichzeitigen, nur zur Entgiftung dienenden geringen Chlorcalciumzusatz beruht, wie das Biedl in der Diskussion auf dem IV. Mikrobiologentag annimmt, ergibt sich vor allem daraus, daß auch, was doch B. aus der Arbeit Friedbergers hätte bekannt sein müssen, mit reiner Kochsalzlösung der gleiche Effekt erzielt wurde.

Mit zwingender Notwendigkeit folgt die Bedeutung des Komplements für die Anaphylaxie aus den Versuchen, in denen es Friedberger zum erstenmal einwandfrei gelang, durch Einwirkung von aktivem normalem Meerschweinchenserum auf Präzipitate eine giftige Substanz abzuspalten¹⁾, das „Anaphylatoxin“. (Diese Zeitschr., Bd. 3, 4.)

Das vom Präzipitat abzentrifugierte Meerschweinchenserum war imstande, normale Meerschweinchen unter dem typischen Symptomenbild der Anaphylaxie akut zu töten.

1) Doerr und Russ haben Versuche veröffentlicht, wonach auch den Präzipitaten, also der Muttersubstanz des Anaphylatoxins, eine gewisse giftige Wirkung zukommt. Doch sind derartige Versuche, die denen über die Giftigkeit der Mischungen von Antigen und Antikörper entsprechen, noch kein Beweis für die Bildung eines Anaphylatoxins. Gerade das Charakteristikum des Anaphylatoxins ist die **akute Wirkung des vom Präzipitat befreiten Abgusses**, die in wenigen Minuten zum Tode führt, während in den Versuchen Doerr's die Präzipitate doch fast ausnahmslos eine sehr protrahierte Wirkung zeigten, weil aus ihnen erst allmählich im Organismus Anaphylatoxin abgespalten wird.

Nun habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Castelli vergleichende Untersuchungen über die Giftigkeit von Präzipitaten einerseits und über die Toxizität des aus ganz analog zusammengesetzten Präzipitaten abgespaltenen Anaphylatoxins andererseits angestellt und dabei hat sich die überraschende Tatsache ergeben, daß die sorgfältig gewaschenen Präzipitate, die unter Variierung von Antigen und Antikörper in der mannigfachsten Weise hergestellt waren, in einer Versuchsreihe in keinem einzigen Fall weder akut noch innerhalb 24 Stunden tödlich wirkten. Dagegen waren die aus einer Parallelreihe von solchen gleichzeitig angesetzten Präzipitaten genau derselben Zusammensetzung gewonnenen anaphylatoxinhaltigen Komplementabgüsse ausnahmslos akut tödlich, und hier zeigten sich auch die offenbar durch das Komplement teilweise aufgeschlossenen Präzipitate als giftig, wie ich das schon früher gesehen habe.

In anderen Versuchen erwiesen sich allerdings auch einfache Präzipitate geringgradig giftig wie bei Doerr und Russ, während die Komplementabgüsse aus in analoger Weise hergestellten Präzipitaten nicht in jedem Fall akut toxisch wirkten. Wir haben also das merkwürdige Verhalten, daß Anaphylatoxin aus Präzipitaten abgespalten wird, die an sich ganz ungiftig sind, während andererseits Präzipitate, die in vitro kein Gift liefern, in vivo wohl durch geringe Abspaltung die bekannte subakute Wirkung ausüben.

Neuerdings gelang es uns aber, überhaupt ohne Präzipitate einfach aus koaguliertem Eiereiweiß durch normales Meerschweinchenserum allein (wohl vermöge dessen gleichzeitigen Gehalts an Normalantikörpern) akut wirkendes Anaphylatoxin abzuspalten. (Ausführliche Veröffentlichung erfolgt in dieser Zeitschrift.) (F.)

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. VII.

7

Leonor Michaelis dachte an die Möglichkeit, daß die Giftwirkung durch das bei der Adsorption des Komplementstückes an das Präzipitat freiwerdende „Endstück“ bedingt sei. Dagegen spricht aber die Tatsache, daß es mir mit großen Mengen auf andere Weise freigemachten Endstückes, das mir Michaelis in dankenswerter Weise zur Entscheidung dieser Frage zur Verfügung stellte, nicht gelang, Meer-schweinchen zu vergiften.

Friedemann hat bereits die Abspaltung des Anaphylatoxins aus Präzipitaten versucht, war jedoch zu keinem positiven Resultat gelangt. Aber auch seinen Versuchen, aus beladenen Blutkörperchen das Gift abzuspalten, können wir eine volle Beweiskraft nicht zusprechen, obwohl sie sicher von richtigen Voraussetzungen aus unternommen waren.

Wie wir in den nachstehenden Versuchen noch zeigen werden, liegen besonders bei den Blutkörperchen ganz abnorme und verwickelte Verhältnisse wegen der gleichzeitigen giftigen Wirkung des Hämoglobins vor, die von Batelli, Gottlieb und Lefmann näher untersucht worden ist.

Auch Friedemann ist es ja schließlich gelungen, „durch unspezifische Eingriffe aus den Erythrocyten Giftstoffe zu extrahieren“.

Nun hat allerdings Friedemann 2 Versuche mitgeteilt, in denen schon vor vollkommener Lösung der „ganz leicht gerötete“ oder „etwas stärker gerötete“ Abguß injiziert wurde. Doch sind die Symptome, die dabei protokolliert wurden, „Müdigkeit und Diarrhöe“ und „Müdigkeit, Parese, Kotentleerung“, so geringfügige, daß es schwer ist, ihnen eine eindeutige Beurteilung zu geben. Auch den Tod am folgenden Tag als Kriterium heranzuziehen, ist immerhin bedenklich, nachdem Friedemann selbst bei wiederholten Reinjektionen Friedberger neuerdings auch bei einmaliger Reinjektion gezeigt hat, daß es ein leichtes ist, bei aktiver Anaphylaxie Kaninchen akut zu töten.

In 2 weiteren Versuchen erfolgte allerdings in einem Fall (Versuch No. 23) der Tod unter Krämpfen in wenigen Minuten. Da jedoch hier ein Ambozeptor verwendet wurde, der sich gegen das Kaninchenblut selbst richtete und von einer nachträglichen Waschung nicht die Rede ist, so können sehr wohl ins Kom-

plement übergegangene Mengen des natürlich für das Kaninchen hochtoxischen gegen die eigene Species gerichteten Ambozeptorserum für die Vergiftung verantwortlich gemacht werden, oder es sind bei der eingetretenen „schwachen Hämolyse“ gewisse Mengen des auf das Kaninchen spezifisch eingestellten schon gebundenen Ambozeptors wieder frei und aktionsfähig geworden (vergl. die analogen Versuche von Pfeiffer und Friedberger, sowie von Bail bei Bakteriolyse).

Weiteren Versuchen, in denen nach vollkommener Hämolyse die Flüssigkeiten an Kaninchen injiziert wurden, ist deshalb eine Beweiskraft nicht zuzusprechen, weil neben dem störenden Einfluß des Hämoglobins hier noch der Umstand die Deutung des Experiments erschwert, daß die mit Ambozeptor beladenen Schatten nicht abzentrifugiert wurden. Friedemann selbst aber hat gezeigt, daß mit dem hämolytischen Ambozeptor beladene Antigene (und in diesem Falle sind ja die Schatten mit den Erythrozyten als funktionell gleichwertig zu betrachten) Anaphylaxie erzeugen.

Wir werden noch im Verlauf der vorliegenden Arbeit zeigen, daß gleichwohl unter Einhaltung der soeben diskutierten Kautelen und unter Verwendung von Schatten an Stelle von Blutkörperchen auch mit hämolytischem Serum die Anaphylatoxinbildung sich einwandsfrei erweisen läßt.

Wenn somit die Versuche Friedemanns auch nicht eindeutig waren, so gebührt ihm doch das Verdienst, zum erstenmal die Bildung des anaphylaktischen Giftes im Reagenzglas in richtiger Erkenntnis der Bedeutung des Komplements versucht zu haben.

Ueber die Natur des Anaphylatoxins wissen wir nichts, wir können aber wohl annehmen, daß es zu dem von Vaughan und Wheeler aus Eiweiß durch alkalischen Alkohol abgespaltete Produkt gewisse Beziehungen hat und vielleicht auch, wie Friedberger schon hervorgehoben hat, zum Pepton, das eine der anaphylaktischen ähnliche Vergiftung auslöst [Biedl und Kraus, H. Pfeiffer und S. Mita¹⁾].

1) Anmerkung bei der Korrektur. Eine Bestätigung und Ergänzung der Anaphylatoxinversuche stellen die im vorvorigen Heft dieser Zeitschrift

Ehe wir nun weitere eingehende Versuche über die Natur des Anaphylatoxins in Angriff nahmen¹⁾, war es zunächst notwendig, einmal die quantitativen Beziehungen festzustellen, die die drei bei der Anaphylatoxinbildung in Betracht kommenden Komponenten zeigen um damit die optimalen Bedingungen für die Anaphylatoxinbildung zu eruieren.

Ueber diese Versuche soll im Nachstehenden berichtet werden. Die Prüfung des Giftes wurde dabei ausschließlich an Meerschweinchen von 200 g bei intravenöser Injektion vorgenommen.

Friedberger hat als Matrix für die Giftbildung in seinen Versuchen ganz ausschließlich Präzipitate benutzt. Wir haben nun die Experimente auch auf Zellen und die homologen Antikörper ausgedehnt und zu diesem Zweck Blutkörperchen und Hämolysin herangezogen. Dabei stellten sich allerdings wesentliche Abweichungen des Verhaltens im Vergleich zu anderen Antigenen ein, die offenbar durch die nach den Untersuchungen von Batelli, Gottlieb und Lefmann und Friedemann bekannte Toxizität des Hämoglobins bedingt waren. Wir hielten es deswegen für unbedingt notwendig, neben den Blutkörperchen auch Schatten zur Anwendung zu bringen. Diese Versuche ergaben dann ein ganz anderes Resultat und sie zeigen jedenfalls, daß die Blutkörperchen mit ihrem Hämoglobingehalt kein geeignetes Testobjekt für Anaphylatoxinversuche darstellen.

Wir wollen im Nachstehenden die Technik der Darstellung des Giftes kurz besprechen.

veröffentlichten bedeutsamen Befunde von H. Pfeiffer und S. Mita dar. Nach ihnen gelingt es beim Mischen des Serums präparierter Meerschweinchen mit dem homologen Antigen Abbauprodukte von Peptoncharakter nachzuweisen.

1) Nach neueren Untersuchungen von Friedberger und Jerusalem ist das bei niedriger Temperatur getrocknete Anaphylatoxin im Exikkator dunkel aufbewahrt lange haltbar. Beim Ausschütteln anaphylatoxinhaltigen Serums mit Aether bleibt das Gift zurück. Das Aetherextrakt ist ungiftig. Bei Fällung mit Alkohol und sofortiger Lösung des Niederschlags erweist sich dieser giftig. Der Rückstand nach Verdunsten des Alkohols ist ungiftig. Bei Verdünnung des anaphylatoxinhaltigen Serums mit destilliertem Wasser und nachfolgender Dialyse ist der Globulinniederschlag ungiftig, die zurückbleibende Flüssigkeit nach Einengung im Faustschen Apparat toxisch.

Bei der Gewinnung des Giftes aus Präzipitaten verfahren wir nach den früheren Angaben Friedbergers. Wir müssen aber ausdrücklich noch einmal betonen, daß wir in Anbetracht der primären Giftigkeit der Sera, die in der Mehrzahl der Fälle von uns nunmehr vorher ermittelt wurde, die Präzipitate besonders ausgiebig gewaschen haben (zweimal mit je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung). Zur Kontrolle haben wir zudem noch wiederholt die Waschwässer auf ihre Giftigkeit geprüft, sie waren jedoch ohne jeden Einfluß.

Die Matrix des Giftes bei den Versuchen mit hämolytischen Seris und Blutkörperchen resp. Schatten stellten wir uns in analoger Weise her.

Die Schatten wurden aus dreimal gewaschenen Blutkörperchen durch Einbringung des Erythrocytensediments in destilliertes Wasser gewonnen. Der nach langdauerndem Zentrifugieren entstandene Bodensatz der Schatten wurde nochmals mit reichlicher Menge destillierten Wassers und darauf mit Kochsalzlösung gewaschen, bis ein völlig farbloser Abguß resultierte, der wahrnehmbar kein Hämoglobin mehr enthielt. Die so gewonnenen hämoglobinfreien Schatten wurden dann mit hämolytischem Ambozeptorserum versetzt, und 1 Stunde bei 37° und etwa 24 Stunden bei Zimmertemperatur damit in Kontakt gelassen. Dann wurde zentrifugiert, der Bodensatz wieder je zweimal mit reichlichen Mengen Kochsalzlösung gewaschen, um auch die letzten Spuren des überflüssigen Ambozeptorserums von den Schatten zu befreien. Aus den so beladenen Schatten wurde dann durch Komplement das Gift abgespalten.

In ganz analoger Weise verfahren wir bei den Blutkörperchen, nur daß hier natürlich die Waschung mit destilliertem Wasser unterblieb. Dagegen wurden nach erfolgter Hämolyse durch möglichst langes Zentrifugieren die ambozeptorbeladenen Schatten entfernt, mit Rücksicht darauf namentlich, daß nach den Untersuchungen von Friedemann die mit dem Antikörper beladenen Blutkörperchen an sich Anaphylaxie auslösen können.

Als Komplement zur Abspaltung des Giftes aus den Antigen-Antikörperverbindungen benutzten wir ausschließlich das

Serum ungebrauchter Meerschweinchen von 200—500 g Körpergewicht.

Wir haben die Erfahrung gemacht, daß die Sera größerer Tiere, zu deren Verwendung wir in Anbetracht der großen Mengen von Komplement, die wir benötigten, uns einige Male verleiten ließen, zur Giftabspaltung weniger geeignet waren.

Alle Antisera, die von uns verwendet wurden, waren vorher durch vorsichtiges einviertelstündiges Erwärmen auf 56° inaktiviert. Eine längere Inaktivierung bei höherer Temperatur schien, worauf einige Erfahrung hindeuten, die Giftbildung ungünstig zu beeinflussen.

In den Fällen, in denen eine Antigen-Antikörperverbindung zunächst kein Gift lieferte, haben wir wiederholt die Beobachtung gemacht, daß bei einer zweiten oder dritten Digerierung mit Komplement Gift abgespaltet wurde.

Aber auch wenn das erste Mal eine befriedigende Abspaltung des Anaphylatoxins erfolgt war, gelang es immer noch, aus der Antigen-Antikörperverbindung bei erneuter Komplementzufuhr Gift in Freiheit zu setzen. In solchen Fällen wurde die Antigen-Antikörperverbindung vor dem neuerlichen Zusatz des normalen Meerschweinchenserums zweimal mit reichlichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, um die letzten Spuren noch vorhandenen fertigen Giftes zu entfernen.

Es sei ausdrücklich nochmals hervorgehoben, daß uns die Giftbildung aus Antigen-Antikörperverbindung nicht immer gelang. Die Ausbeute hängt wesentlich von den quantitativen Beziehungen zwischen Antigen und Antikörper ab. Bis zu einem gewissen Grade dürfte dafür auch das Meerschweinchenserum verantwortlich sein, denn wir haben gefunden, daß bei Verwendung eines bestimmten Antikörpers an einem Tag ein Gift abgespaltet wurde, am anderen Tag unter sonst gleichen Bedingungen bei Verwendung eines anderen Meerschweinchenserums nicht.

Eine Beziehung der Eignung der Antisera für die Toxinbildung zu ihrer primären Giftigkeit konnten wir nicht feststellen.

In unseren Versuchen, in denen wir die optimalen Verhältnisse bei der Giftbildung studierten, gingen wir so vor,

daß wir die wesentlichen bei der Anaphylatoxinbildung in Betracht kommenden Faktoren variierten.

Es sind das die 3 Komponenten, aus denen das Gift gebildet ist, Antikörper, Antigen und Komplementserum und dann die Zeit der gegenseitigen Einwirkung.

Derartige Versuche wurden stets gleichzeitig mit Antieiweißseris und mit hämolytischen Seris ausgeführt, und hier sowohl bei Verwendung von Schatten als auch bei Verwendung von Blutkörperchen.

Als Antigen diente in den nachstehen Versuchen ausschließlich Serum und Blutkörperchen vom Hammel, als Antikörper homologe Sera vom Kaninchen ¹⁾.

Die Vorbehandlung der Kaninchen zur Gewinnung der Antisera und ebenso die Injektion des Anaphylatoxins an Meerschweinchen erfolgte ausschließlich intravenös.

1. Versuche mit Varierung der Antigenmengen.

A priori war zu erwarten, daß die Giftbildung der Menge des Antigens parallel geht, das wir ja als einen Hauptbestandteil der Muttersubstanz des Giftes ansehen müssen.

Die nachstehenden Versuchsreihen zeigen jedoch, daß hiervon keine Rede ist.

a) Versuche mit Antieiweißseris.

Zu der folgenden Versuchsserie wurde normales, bei 55° inaktiviertes Hammelserum und präzipitierendes Serum eines Kaninchens No. 397 benutzt.

Das Kaninchen war vorbehandelt, wie folgt.
Kaninchen No. 397, 2000 g, erhält am

24. XII. 09 }
5. I. 10 } je 1,0 Hammelserum intravenös.

Blutentnahme: 31. I. 10.

1) Doch sei hier kurz erwähnt, daß wir die gleichen Resultate auch erzielt haben mit Präzipitat aus anderen Eiweißkörpern. Ebenso liefern ambozeptorbeladene Bakterien (*B. typhi*, *V. Metschnikoff*, *B. tuberculosis*, *B. prodigiosus*) bei Behandlung mit Komplement nach Untersuchungen von Friedberger und Goldschmid akut tötendes Anaphylatoxin. Ueber dies Anaphylatoxin aus Bakterien und namentlich über seine Beziehungen zum „Endotoxin“ sowie beim Tuberkelbacillus zum Tuberkulin soll demnächst ausführlich berichtet werden (s. auch Nachtrag).

Das Serum wird in frigo aufbewahrt und vor der Verwendung inaktiviert. Präzipitationswert:

1:100 000 1:1 000 000
+ —

Primäre Toxizität des Serums: > 0,5 pro 100 g Tier¹⁾.

21. II. 10.

Es werden Verdünnungen 1:0, 1:1, 1:10, 1:100, von inaktiviertem Hammelserum in Volumen von je 2 ccm mit dem gleichen Volumen des präzipitierenden Serums versetzt.

Nach 24 Stunden werden die Präzipitate wie üblich gewaschen und je mit 4,0 normalen Meerschweinchen-serums versetzt.

Nach weiteren 24 Stunden wird zentrifugiert und das nunmehr toxisch gewordene Meerschweinchen-serum an Meerschweinchen ausgewertet.

23. II. 10.

Meerschweinchen No. V 33, erhält 3 ccm des Komplementserums nach Kontakt mit dem Präzipitat aus 2,0 präzipitierenden Serums + 2 ccm Hammelserum 1:0.

10⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6, Atmung beschleunigt, sonst keine Symptome.

10⁴⁶ Temperatur 35,6°.

Tier erholt sich wieder völlig und bleibt leben.

Meerschweinchen No. V 34, 200 g, erhält 3,0 Komplementabguß von dem Präzipitat, das unter sonst gleichen Bedingungen mit 1:1 verdünnten Hammelserums hergestellt war.

10⁴⁶ Injektion, Temperatur vorher 38,2°.

10⁴⁶ Sprünge und Krämpfe, Tier legt sich auf die Seite, Dyspnoe, Reflexe verlangsamt.

10⁴⁹ Tier wieder etwas erholt, Hinterbeine gelähmt, Temperatur 35,8°.

11⁵ Tier wieder munter.

Das Tier ging in der Nacht ein.

In diesem Versuche sehen wir eine auffallend schnelle Erholung nach einer typisch schweren Anaphylaxie, ganz wie

1) Die Toxizitätsbestimmung geschah nach der von Friedberger und Castelli in der vorigen Mitteilung angegebenen Methode. Bei dieser Gelegenheit sei darauf hingewiesen, daß, wie ich nachträglich ersehe, bereits Pick und Yamanouchi (Wiener klin. Wochenschr., 1908) und v. Dungen (Centr. f. Bakt., Ref., Bd. 44, Beiheft, p. 60) die Toxizität von Kaninchenantiseris für Kaninchen beobachtet haben, ohne allerdings den Zusammenhang mit der Anaphylaxie zu beweisen. Dieser wurde durch die Untersuchungen von Friedberger und Castelli dargetan.

wir das auch bei der aktiven und passiven Anaphylaxie nicht selten zu sehen gewohnt sind.

Meerschweinchen No. V 35, 200 g, erhält 3,0 Komplementabguß von dem Präzipitat mit 1:10 verdünntem Hammelserum hergestellt.

11 Injektion. Temperatur vorher 37,8.

11⁵ Krämpfe und Sprünge, Tier legt sich auf die Seite.

11⁷ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

11⁸ tot.

Meerschweinchen No. V 36, 200 g, erhält 3,0 Abguß von Präzipitat mit 1:100 verdünntem Hammelserum hergestellt.

11¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 36,6°, sofort Sprünge.

Tier legt sich auf die Seite.

11¹⁷ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

11¹⁸ tot.

Das Resultat dieser Versuche ist auffallend.

Es ergibt sich, daß keineswegs die größeren Antigenmengen ein besseres Gift geliefert haben.

Im Gegenteil, wir sehen, wie bis zu einem gewissen Grad direkt umgekehrt proportional der Antigenmengen die Wirkung des Giftes zunimmt.

Bei unverdünntem Antigen haben wir so gut wie überhaupt keine Giftwirkung. Bei Verdünnung 1:1 sehen wir deutliche Vergiftung, aber wieder Erholung; erst bei Verdünnung 1:10 erfolgt akuter Tod.

In einer weiteren Versuchsreihe sind wir mit der Verdünnung des Antigens noch weiter hinunter gegangen, um die Grenzdosis an Antigen für die Anaphylatoxinbildung bei Verwendung einer bestimmten Antikörperdosis zu ermitteln.

Es wurden unter sonst vollkommen identischen Bedingungen mit dem vorigen Versuch folgende Hammelserumverdünnungen angewandt: 1:0; 1:1; 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000; 1:100000.

23. II. 10. Mischung von Antigen und Antikörper.

24. II. Die Präzipitate wurden wiederum mit 4,0 Komplementserum versetzt.

25. II. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. V 46, 190 g, erhält 3,0 Abguß vom Präzipitat dargestellt mit Hammelserum 1:0.

1¹⁷ Injektion, Temperatur vorher 37,6, Atmung etwas beschleunigt.

Tier zittert, erholt sich aber bald wieder.

2 Temperatur 35,8.

2⁰⁰ Tier ganz munter.

Meerschweinchen No. V 48, 195 g, erhält Abguß vom Präzipitat dargestellt mit Hammelserum 1:1 jedoch statt 3 nur 2 ccm.

3¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Bald nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

Tier legt sich auf die Seite.

3²⁰ Tier erhebt sich wieder und erholt sich etwas.

3³⁰ Temperatur 35,8.

Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. V 45, 190 g, erhält den Abguß von Präzipitat dargestellt mit Hammelserumverdünnung 1:10, jedoch wiederum nur 2 ccm.

1⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion heftige Krämpfe und Sprünge.

1⁴⁷ Temperatur 34,8, Tier sehr matt, sitzt da mit gesträubtem Fell.

2⁴⁰ Tier noch immer sehr matt, bleibt krank bis zum Abend und ist am anderen Morgen tot.

Meerschweinchen No. V 44, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses vor dem Präzipitat, bereitet mit Hammelserum 1:100.

1³⁷ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort schwere Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

1³⁹ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

1⁴⁰ tot.

Meerschweinchen No. V 47, 200 g, erhält 3 ccm des Abgusses vom Präzipitat, bereitet mit der Hammelserumverdünnung 1:1000.

3¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

3¹² Atmung nach der Injektion etwas beschleunigt, vereinzelte Krämpfe, Tier sehr matt, zittert stark, Hinterbeine gelähmt.

3³⁰ Temperatur 35,2.

Tier erholt sich wieder, bleibt leben.

Meerschweinchen No. V 43, 200 g, erhält 3 ccm des Abgusses vom Präzipitat, bereitet mit der Hammelserumverdünnung von 1:100 000.

1²⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Keine Symptome.

1²⁸ Temperatur 36,6.

Tier völlig munter.

Wir sehen also in völliger Uebereinstimmung mit der vorigen Versuchsreihe eine schlechtere Giftbildung bei Verwendung großer Mengen von Antigen. Bei kleineren Mengen haben wir zunächst nur mehr weniger ausgesprochene Symptome und erst bei weiterer Verringerung akuten Tod. Wird die Antigenmenge noch weiter verringert, so sehen wir wieder, wie die Tiere nach Ueberstehen einer umgekehrt proportional der Dosis mehr weniger schweren Anaphylaxie durchkommen, um bei noch kleineren Dosen überhaupt keine Symptome

mehr zu zeigen. In der nachstehenden Tabelle haben wir schematisch auch die Niederschlagshöhen aufgezeichnet, für die ja bis zu einem gewissen Grad ähnliche Verhältnisse vorliegen, indem nach den bekannten Untersuchungen von Eisenberg, Michaelis u. a. die Präzipitatbildung bei Antigenüberschuß gleichfalls eine geringere ist. Das zeigt sich bei uns insofern, als das Präzipitat bei Verwendung des unverdünnten Antigens schwächer war, als bei dem 1:1 verdünnten. Von da ab aber nimmt es proportional mit der Antigenmenge ab. Es zeigt sich, daß die Anaphylatoxinbildung keineswegs der Präzipitatstärke parallel geht; denn die beiden ersten Röhrchen, in denen die reichlichsten Niederschläge vorhanden waren, lieferten kein, oder nur ein minimal wirksames Gift. Wir sehen also, wie die Giftbildung vollkommen unabhängig ist von der Menge des Präzipitates, offenbar aber nicht von seiner Zusammensetzung.

b) Versuche mit Blutkörperchenschatten.

Auch in diesen Versuchen wurde die Menge des Antigens variiert. Wir gingen in den einzelnen Versuchsreihen von den Schatten aus 8 ccm Blut hinunter bis zu denen aus 0,1 Blutkörperchen. Zu den in üblicher Weise mit dem hämolytischen Serum beladenen Schatten wurde i. R. je 3 ccm Komplementserum zugesetzt und zu der Injektion jedesmal der gesamte Abguß verwendet.

Als Ambozeptor diente in der ersten Versuchsreihe das Serum des Kaninchens No. D 3, 1500 g.

Vorbehandlung: 2. III., 9. III., 12. III. je 1 ccm Hammelblut intravenös.

Entblutet: 19. III.

Hämolytischer Titer: 0,001.

Toxizität: 0,3 pro 100 g Tier.

Je 1 ccm dieses hämolytischen Serums wurde mit den Schatten aus 5,0 bzw. 3,0 Hammelblut versetzt.

21. III. Mischung von Antigen und Antikörpern.

22. III. Komplementzusatz zu den beladenen Schatten.

23. III. Prüfung der Abgüsse auf Toxizität.

Meerschweinchen No. V 122, 200 g, erhält 2,75 des Komplementabgusses von beladenen Schatten aus 5,0 Blut.

11⁵⁴ Injektion, Temperatur vorher 38°, Atmung nach der Injektion beschleunigt, Tier zittert, sträubt das Fell, sonst aber keine Symptome.

12⁰⁰ Temperatur 34,8°.

Tier stirbt in der Nacht.

Meerschweinchen No. V 121, 200 g, erhält 3,0 Komplementabguß von beladenen Schatten aus 3,0 Blut.

11⁴¹ Injektion, Temperatur vorher 38°.

11⁴² Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

11⁴⁴ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

11⁴⁵ tot.

Obwohl in dieser Versuchsreihe das 2. Tier etwas mehr Giftabguß erhalten hat, so ist doch die bessere Wirkung von kleineren Mengen von Blutschatten in der Matrix unverkennbar.

Das tritt noch deutlicher auch in der folgenden Versuchsreihe hervor, in der das gleiche hämolytische Serum benutzt wurde, wie oben.

Die Schatten aus je 5,0, 3,0, 1,0 und 0,5 Hammelblutschatten werden mit je 1,0 hämolytischen Serums in Kontakt gebracht und die beladenen Schatten mit je 3 ccm Komplementserum versetzt.

23. III. Mischung von Antigen und Antikörpern.

24. III. Komplementzusatz.

25. III. Prüfung der Giftigkeit der Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. V 124, 195 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 5,0 Blut.

10⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6°.

Bald nach der Injektion leichte Krämpfe, Tier zittert.

10⁵⁵ Temperatur 35,8°, Tier wieder ganz erholt.

Meerschweinchen No. V 123, 195 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 3,0 Blut.

10²⁴ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge, Tier wälzt sich.

10²⁷ Tier wieder etwas erholt, ist jedoch sehr matt, Hinterbeine gelähmt.

10³⁵ Temperatur 35,3.

6⁰⁰ Tier wird tot aufgefunden.

Meerschweinchen No. V 125, 200 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 1,0 Blut.

11⁹ Injektion, Temperatur vorher, 37,8°, keine Symptome.

11¹⁵ Temperatur 35,6.

11²⁰ Tier munter.

In den folgenden Versuchen wurde als Ambozeptor das Serum des Kaninchens No. 51, 1790 g, benutzt.

Vorbehandlung: 14. II. 10. 1,8 5-proz. Hammelblutauflösung intravenös.

7. III. 10. 1 ccm gewaschene Hammelvollblutkörper.

23. III. 10. Desgleichen.

Blutentnahme: 4. IV. 10.

Hämolytischer Titer: 0,001.

Toxizität: 0,35 pro 100 g Meerschweinchen.

Es wurden wiederum mit je 1 ccm dieses Serums wechselnde Mengen von Schatten in Kontakt gelassen, und zwar die Schatten aus 8,0, 3,0, 1,0, 0,1 Blut; danach Digestion mit Komplement.

13. V. Mischung von Antigen und Antikörpern.

14. V. Komplementzusatz (3,0).

15. V. Prüfung der Abgüsse auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 33, 200 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 8,0 Blut.

10⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,8°.

Nach der Injektion Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

10¹⁵ Temperatur 36,8.

10²⁰ völlig munter.

Meerschweinchen No. T 32, 200 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 3,0 Blut.

9⁵⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

9⁵² agonale Atmung, Reflexe erloschen.

9⁵⁴ tot.

Meerschweinchen No. T 34, 200 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 1,0 Blut.

10¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 38°.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

10²⁰ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

10²⁵ tot.

Meerschweinchen No. T 35, 200 g, erhält den Abguß von beladenen Schatten aus 0,1 Blut.

10³⁰ Injektion, Temperatur 37,6.

Abgesehen von geringer Atembeschleunigung, leichtem Zittern keine Symptome.

10³⁵ Temperatur 35,9.

10⁵⁰ Tier munter.

In allen Versuchsreihen mit Blutkörperchenschatten sehen wir in Uebereinstimmung mit dem Resultat bei Verwendung von präzipitierenden Seris und homologen Antigen die Tatsache, daß nur innerhalb einer gewissen Breite der Antigenmenge unter sonst gleichen Bedingungen die Abspaltung einer tödlichen Dosis des Anaphylatoxins gelingt.

c) Versuche mit Blutkörperchen.

Ganz anders liegen nun aber die Verhältnisse bei Verwendung der Blutkörperchen an Stelle der Schatten. Hier bewirkt eben die primäre Giftigkeit des Hämoglobins, die vielleicht gar unter dem Einfluß der Ambozeptorwirkung noch gesteigert ist, eine völlige Umkehrung der quantitativen Verhältnisse.

Zu den Versuchen diene als Ambozeptor das inaktivierte Serum des Kaninchens D 4, 1500 g.

Vorbehandlung: 2. III., 9. III., 12. III. je 1 ccm Hammervollblut intravenös.

21. III. Entblutung.

Hämolytischer Titer: 0,001.

Toxizität: 0,15 pro 100 g Tier.

Je 1 ccm des inaktivierten hämolytischen Serums wurde in Kontakt gebracht mit dem Bodensatz von 2, 1 und 0,1 gewaschenem Hammervollblut (Vollblut).

28. III. Mischung von Antigen und Antikörpern.

29. III. Zusatz von je 3 ccm Komplementserum zu den beladenen Blutkörperchen (Hämolyse).

30. III. Es wurde kräftig zentrifugiert und die von dem Schatten abgegossene Flüssigkeit, die in diesem Fall also neben dem Meerschweinchenserum noch beträchtliche Mengen

von Hämoglobin enthielt, wurde auf ihre Giftigkeit an Meerschweinchen geprüft.

Meerschweinchen No. W 6, 200 g, erhält 3 ccm des Abgusses von 2,0 beladener und hämolysierter Blutkörperchen.

5²⁶ Injektion, Temperatur vorher 37,5.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

5²⁷ agonale Atmung, Reflexe erloschen, Schaumaustritt aus der Nase.

5²⁸ tot.

Meerschweinchen No. W 5, 200 g, erhält den Abguß von 1 ccm beladener Blutkörper.

5⁰ Injektion, Temperatur 37,8.

Sofort nach der Injektion Krämpfe, Tier wirft sich auf die Seite.

5⁴ erneute Krämpfe.

5⁴ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

5⁶ tot.

Meerschweinchen No. W 4, 200 g, erhält den Abguß von 0,1 beladener Blutkörperchen.

4⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Atmung beschleunigt, Tier sträubt das Fell, zittert, kratzt sich.

4⁵⁰ Temperatur 35,2, Tier munter.

Wir sehen also hier im Gegensatz zu den vorigen Versuchsreihen, daß von einer optimalen Giftbildung bei Verwendung mittlerer Antigenmengen keine Rede ist.

Die größeren Antigenmengen haben nicht, wie sonst, hemmend auf die Giftbildung gewirkt.

Wir möchten das, wie gesagt, auf eine Summationswirkung zurückführen, indem zu der primären Wirkung des Anaphylatoxins hier noch der vergiftende Einfluß des Hämoglobins hinzukommt.

Immerhin war hier die maximale Antigenmenge noch relativ klein, doch wurde das gleiche Resultat noch in weiteren Versuchsreihen mit größeren Blutkörperdosen erzielt.

In der folgenden Versuchsreihe wurden 5,0, 1,0 und 0,1 Hammelblutkörperdosen mit der gleichen Menge des gleichen hämolytischen Serums in Kontakt gelassen, das zu den vorigen Versuchen gedient hatte.

6. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

7. IV. Zusatz von je 3,0 Komplement zu den beladenen Blutkörperchen.

8. IV. Prüfung des Abgusses nach der Zentrifugierung auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 20, 200 g, erhält den Abguß von 5 ccm Blut.

1¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Gleich nach der Injektion beschleunigte Atmung.

1²⁰ Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

1²³ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

1²⁶ tot.

Meerschweinchen No. W 19, 200 g, erhält den Abguß von 1 ccm Blut.

1⁰ Injektion, Temperatur vorher 38°.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

1³ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

1⁴ tot.

Meerschweinchen No. W 21, 200 g, erhält den Abguß von 0.1 ccm Blut.

1⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6°.

Atmung beschleunigt, zittert, auf den Rücken gelegt, bleibt das Tier liegen.

1⁸⁰ Temperatur 35,6, Tier munter.

Analog verliefen auch die beiden folgenden Versuche, in denen der Bodensatz von 10,0 bzw. 1,0 Blutkörper mit derselben Dosis desselben Ambozeptors beladen wurde.

8. IV. Mischung von Antigen-Antikörper.

9. IV. Zusatz von je 3 ccm Komplement. (Die Hämolyse im ersten Röhrchen war stark, aber unvollständig.)

10. IV. Prüfung der Komplementabgüsse auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 27, 190 g, erhält den Abguß von 10 ccm beladener Blutkörper.

10⁴⁵ Injektion, Temperatur 37,8.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

10⁵⁸ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

Schaumaustritt aus der Nase.

10⁶⁸ tot.

Meerschweinchen No. W 26, 200 g, erhält den Abguß von 1 ccm Blutkörper.

10³⁰ Injektion, Temperatur 38,0.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

10³³ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

10³⁸ tot.

Die Experimente mit nativen Blutkörperchen zeigen also übereinstimmend ein ganz abweichendes Verhalten von denen mit Schatten; sie ergeben, daß hier neben dem Anaphylatoxin aus dem Stroma noch eine andere Giftkomponente beteiligt sein muß.

Die Resultate der Versuche mit Variierung der Antigenmenge sind in der nachstehenden Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I.
Variierung der Antigenmenge.

Hammelserum 2,0 ccm	Präzipit. Kan.- Serum No. 397	Präzipitat- ausbeute	Komplement Dosis	Resultat
1:0	2,0 ccm	WV	3,0 ccm	gesund
1:1	2,0 "	WV	3,0 "	anaphylakt.
1:10	2,0 "	WV	3,0 "	tot
1:100	2,0 "	WV	3,0 "	tot
1:0	2,0 "	WV	3,0 "	gesund
1:1	2,0 "	WV	2,0 "	leicht. anaph.
1:10	2,0 "	WV	2,0 "	anaphylakt.
1:100	2,0 "	WV	3,0 "	tot
1:1000	2,0 "	WV	3,0 "	leicht. anaph.
1:10 000	2,0 "	WV	3,0 "	—
1:100 000	2,0 "	WV	3,0 "	gesund
Blutkörper- schatten	Hämol. Kan.- Serum D 3		Komplement Dosis	Resultat
5,0 ccm	1,0 ccm	.	2,75 ccm	gesund
3,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
5,0 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
3,0 "	1,0 "	.	3,0 "	anaphylakt.
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
0,5 "	1,0 "	.	3,0 "	—
	Hämol. Kan.- Serum 51		Komplement Dosis	
8,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	gesund
3,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
0,1 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
Blutkörper	Hämol. Kan.- Serum D 4		Komplement Dosis	Resultat
2,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	tot
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
0,1 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
			Komplement Dosis	
5,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	tot
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
0,1 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
			Komplement Dosis	
10,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	tot
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot

2. Varrierung der Antikörpermenge.

Auch diese Versuche wurden wiederum mit Serum, Schatten und Blutkörperchen vom Hammel und mit entsprechenden Antiseris ausgeführt, zum Teil unter Verwendung der gleichen Antisera wie in der vorigen Versuchsgruppe.

a) Versuche mit präzipitierenden Seris.

In der ersten Versuchsreihe wurde das bereits oben verwandte Kaninchenserum 397 benutzt, und zwar in Mengen von 4,0, 2,0, 1,0 und 0,5 ccm.

Die damit in Kontakt gelassene Hammelserummengung betrug in allen Versuchen 1 ccm, der Komplementzusatz zum Präzipitat 4 ccm.

23. II. Mischung von präzipitierendem Serum und Hammelserum.

24. II. Zusatz des Komplements zu den Präzipitaten.

25. II. Auswertung der giftigen Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. V39, 190 g, erhält 3 ccm des Abgusses vom Präzipitat, gewonnen mit 4,0 ccm präzipitierenden Serums.

12³⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6°.

Bald nach der Injektion Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

12³⁵ Temperatur 34,5.

Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. V40, 200 g, erhält 2,5 ccm des Abgusses vom Präzipitat, gewonnen mit 2 ccm präzipitierenden Serums.

12³⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge.

12³⁵ Tier etwas erholt, noch sehr matt.

12⁴⁰ Temperatur 35,3, Tier wird um 4 Uhr tot aufgefunden.

Meerschweinchen No. V41, 200 g, erhält 3 ccm des Abgusses vom Präzipitat, gewonnen mit 1,0 präzipitierenden Serums.

12⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge, Tier wälzt sich.

12⁴⁵ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

12⁴⁵ tot.

Meerschweinchen No. V42, 200 g, erhält 3,0 des Komplementabgusses vom Präzipitat, gewonnen mit 0,5 präzipitierenden Serums.

12⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 39,0.

Tier zeigt keine deutlichen Symptome, bleibt leben.

1' Temperatur 36,6. Tier munter.

Wir sehen aus diesen Versuchsreihen, daß auch bei Variierung des Antikörpers in gleicher Weise wie bei dem Antigen die mittleren Dosen die optimale Giftausbeute gegeben haben.

Analog mit diesem Versuch verlief ein weiterer mit Verwendung desselben Serums. Allerdings war hier die Anaphylatoxinbildung keine so günstige, daß tödliche Dosen des Giftes resultierten. Aber gleichwohl haben wir unter Berücksichtigung des Krankheitsbildes völlige Uebereinstimmung mit der vorigen Versuchsreihe.

Es wurden 4,0, 1,0 und 0,8 präzipitierendes Serum No. 397 verwendet und wiederum 1,0 Hammelserum. Zusatz wiederum von 4 ccm Komplement zu den Präzipitaten.

25. II. Mischung von Antigen und Antikörper.

26. II. Komplementzusatz.

27. II. Prüfung der Komplementabgüsse auf ihre Giftigkeit.

Meerschweinchen No. V 52, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses vom Präzipitat, dargestellt mit 4,0 präzipitierenden Serums.

11³⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Tier zeigt keine Symptome, frißt wieder.

11³³ Temperatur 35,0.

Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. V 53, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses vom Präzipitat, dargestellt mit 1,0 präzipitierenden Serums.

11³⁷ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, Tier legt sich auf die Seite.

11⁴⁰ Tier etwas erholt, Hinterbeine gelähmt.

11⁴³ Temperatur 36,2.

4 Uhr das Tier wird tot aufgefunden.

Meerschweinchen No. V 54, 200 g, erhält 3,0 des Komplementabgusses vom Präzipitat, dargestellt mit 0,5 präzipitierenden Serums.

11⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6

Atmung etwas beschleunigt, leichte Lähmung der Hinterbeine.

11⁴⁸ Temperatur 34,5. munter.

Das Tier stirbt in der Nacht.

In ganz analoger Weise verliefen wiederum auch hier die Versuche mit Blutkörperchenschatten.

b) Versuche mit Schatten.

Als hämolytisches Serum diente das Serum des Kaninchens D 4 (s. oben).

8*

Von diesem Serum wurde je 2,0, 1,0, 0,5 jeweilig versetzt mit dem Schatten von 3,0 Blutkörperchen.

30. III. Beladung der Schatten.

31. III. Zusatz des Komplements (je 3,0).

1. IV. Auswertung der Giftigkeit der Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. W 9, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 2,0 Antiserum beladenen Schatten.

6 Uhr Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Tier zittert, zeigt aber sonst keine Symptome.

6¹⁵ Temperatur 35,8.

Tier munter, bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. W 7, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von dem mit 1,0 Antiserum beladenen Schatten.

5⁶ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

5⁷ Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

5¹² etwas erholt, Temperatur 35,6.

Tier sehr matt und krank, stirbt in der Nacht.

Meerschweinchen No. W 8, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 0,5 Antiserum beladenen Schatten.

5²⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

5²⁶ Temperatur 36,6.

Tier munter.

Im gleichen Sinne verlief die folgende Versuchsreihe, bei der das hämolytische Serum des Kaninchens 51 (s. oben) verwandt wurde.

Es wurden von diesem Serum die Mengen 5,0, 1,0, 0,1 verwandt. Von Schatten wiederum 3 ccm, ebenso vom Komplement.

24. IV. Beladung der Schatten.

26. IV. Zusatz des Komplementes zu den beladenen Schatten.

28. IV. Prüfung des Komplementabgusses auf seine Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 83, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 5 ccm Antiserum beladenen Schatten.

10⁵⁴ Injektion, Temperatur vorher 37,2.

Keine deutlichen Symptome.

11⁵ Temperatur 34,2.

Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. W 84, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von dem mit 1,0 Antiserum beladenen Schatten.

10⁵⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort deutliche Krämpfe und Sprünge.

11⁰ Temperatur 34,0, Tier sehr matt, erholt sich aber und bleibt leben.

Der Versuch mit dem Abguß von mit 0,1 Antiserum beladenen Blutkörperchenschatten konnte leider nicht mehr ausgeführt werden, da das Röhrchen beim Zentrifugieren geplatzt war. Immerhin sehen wir auch aus dieser Versuchsreihe deutlich den ungünstigen Einfluß, den die größere Dosis auf die Giftbildung ausübt.

Es wurden noch weitere Versuche mit 3,0, 1,0 und 0,1 des gleichen Antiserums unter sonst identischen Bedingungen angestellt.

30. IV. Beladung der Schatten mit dem Antiserum.

1. V. Zusatz des Komplements.

2. V. Prüfung der Giftigkeit des Komplementabgusses.

Meerschweinchen No. T 5, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von dem mit 3,0 Antiserum beladenen Schatten.

4¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Keine deutlichen Symptome.

4²⁰ Temperatur 36,8, Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. T 6, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von dem mit 1,0 Antiserum beladenen Schatten.

4²⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,2.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

4³⁸ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

4⁴⁰ tot.

Meerschweinchen No. T 7, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von dem mit 0,1 Antiserum beladenen Schatten.

4⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,7.

Tier zeigt keine Symptome, Hinterbeine gelähmt.

4⁵⁰ Temperatur 33,0.

5¹⁵ Tier wieder munter.

Die Versuche mit Serum und Blutkörperchenschatten ergeben also völlig übereinstimmend, daß auch ein Ueberschuß von **Antikörper** für die Anaphylatoxinausbeute unter den Bedingungen unserer Versuche ungünstig ist.

c) Versuche mit Blutkörperchen.

Ganz abweichend von den obigen, doch vollkommen übereinstimmend mit den Resultaten bei Variierung des Antigens sind die Ergebnisse der Versuche mit Blutkörperchen. Wir sehen auch bei Variierung des Antikörpers hier keineswegs eine besonders intensive Giftbildung aus den mittleren Dosen. Vielleicht ergeben sogar gerade die höchsten Dosen eine bessere Giftausbeute, wie sich aus dem klinischen Verlauf der Vergiftung ergibt. Es wurde zunächst ein Versuch angestellt mit dem hämolytischen Serum des Kaninchens C 27, 1650 g.

Vorbehandlung: 19. I. 10: 9,6 einer Verdünnung von Hammelblut 1:20000.

7. III., 25. III. und 30. III. je 1 ccm Hammelvollblut.

4. IV. Blutentnahme.

Hämolytischer Titer: 0,001.

Toxizität wurde nicht ermittelt.

Von diesem Serum wurde 5,0, 1,0 und 0,1 mit je 1 ccm Hammelblutkörper versetzt.

8. IV. Mischung der Blutkörperchen mit dem Antiserum.

9. IV. Zusatz des Komplements zu den beladenen Blutkörperchen (3,0 ccm).

10. IV. Prüfung der Abgüsse auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 28, 190 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 5,0 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

11⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion Krämpfe. Das Tier wirft sich auf die Seite, Hinterbeine gelähmt.

11⁴ Tier etwas erholt, aber sehr matt, Temperatur 35,8. Tier bleibt sehr krank.

7⁰ abends tot.

Meerschweinchen No. W 29, 190 g, erhält 3 ccm Komplementabguß von den mit 1,0 Antihammels serum beladenen Blutkörperchen.

11¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Keine Symptome.

11¹⁸ Temperatur 36,2, Tier munter, bleibt leben.

Meerschweinchen No. W 30, 190 g, erhält 3 ccm Komplementabguß von den mit 0,1 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

11²⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,1.

Keine Symptome.

11²⁵ Temperatur 36,4.

Tier munter und bleibt leben.

Eine weitere Versuchsreihe wurde mit dem hämolytischen Serum No. 51 (siehe oben) angestellt.

Es wurden die Mengen von 5,0, 1,0 und 0,1 des Serums benutzt. Blutkörperchen 1,0, Komplement 3,0.

25. IV. Beladung der Blutkörperchen.

26. IV. Zusatz des Komplements zu den beladenen Blutkörperchen.

27. IV. Prüfung der Toxizität des Komplementabgusses.

Meerschweinchen No. W 77, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 5 ccm Antiserum beladenen Blutkörperchen.

12¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge, das Tier legt sich auf die Seite.

12¹³ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12¹⁴ tot.

Meerschweinchen No. W 78, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 1,0 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

12²¹ Injektion.

Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

12²³ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12²⁴ tot.

Meerschweinchen No. W 79, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 0,1 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

12²⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

12²⁸ Tier etwas erholt, bleibt leben.

12⁴⁰ Temperatur 34,0.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde das Serum des Kaninchens M 1, 1600 g, benutzt.

Vorbehandlung: 23. III., 30. III. und 5. IV. mit je 1,0 Hammelblut.

Das Tier stirbt unmittelbar nach der letzten Injektion.

Sofortige Blutentnahme.

Hämolytischer Titer: 0,004.

Toxizität nicht bestimmt.

Es wurden von diesem Serum wiederum 10,0, 5,0, 1,0, 0,1 und 0,05 mit 1 ccm Blut versetzt und die beladenen Blutkörper wiederum mit 3,0 Komplementserum in Kontakt gelassen.

13. V. Beladung der Blutkörper mit dem Antikörper.

14. V. Zusatz des Komplements zu den beladenen Blutkörperchen.

15. V. Auswertung der Giftigkeit des Komplementabgusses.

Meerschweinchen No. T 35, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 10,0 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

10¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Tier legt sich auf die Seite.

10¹⁶ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

10¹⁸ tot.

Meerschweinchen No. T 36, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 5,0 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

10²¹ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

10²³ das Tier legt sich auf die Seite.

10²⁵ Schaumaustritt aus der Nase.

10²⁷ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

10³¹ tot.

Meerschweinchen No. T 37, 195 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 1,0 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

10²⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,0.

Sofort nach der Injektion Tier schwer krank.

10³⁵ deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite, Schaumaustritt aus der Nase.

10³⁸ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

10⁴² tot.

Meerschweinchen No. T 38, 200 g, erhält 3 ccm des Abgusses von den mit 0,1 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

10⁵⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,2. Das Tier zeigt leichte Krämpfe.

10⁴⁴ Temperatur 34,8. Das Tier ist etwas matt.

8^o tot.

Meerschweinchen No. T 39, 195 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses von den mit 0,05 Antiserum beladenen Blutkörperchen.

10⁵⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,0.

Keine Symptome.

11^o Temperatur 36,0. Tier munter und bleibt leben.

Die Versuche zeigen wiederum das abweichende Verhalten der Erythrocyten von den übrigen untersuchten Antigenen bei der Anaphylatoxinbildung.

Die Resultate mit Variierung der Antikörpermenge sind in der nachstehenden Tabelle II zusammengefaßt.

Tabelle II.
Variierung der Antikörpermenge.

Präzip. Kan.- Serum No. 397	Hammelserum	Präzipitat- ausbeute	Komplement Dosis	Resultat
4,0 ccm	1,0 ccm	∇∇	3,0 ccm	gesund
2,0 "	1,0 "	∇∇	2,5 "	tot
1,0 "	1,0 "	∇	3,0 "	tot
0,5 "	1,0 "	∇	3,0 "	gesund
4,0 "	1,0 "	∇∇	3,0 "	gesund
1,0 "	1,0 "	∇	3,0 "	tot
0,8 "	1,0 "	∇	3,0 "	gesund
Hämol. Kan.- Serum D 4	Blutkörper- Schatten			
2,0 ccm	3,0 ccm	.	3,0 ccm	gesund
1,0 "	3,0 "	.	3,0 "	anaphylakt.
0,5 "	3,0 "	.	3,0 "	gesund
Hämol. Kan.- Serum 51				
5,0 ccm	3,0 ccm	.	3,0 ccm	gesund
1,0 "	3,0 "	.	3,0 "	anaphylakt.
3,0 "	3,0 "	.	3,0 "	gesund
1,0 "	3,0 "	.	3,0 "	tot
0,1 "	3,0 "	.	3,0 "	gesund
Hämol. Kan.- Serum C 27	Blutkörper			
5,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	anaphylakt.
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
0,1 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund
Hämol. Kan.- Serum 51				
5,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	tot
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
0,1 "	1,0 "	.	3,0 "	anaphylakt.
Hämol. Kan.- Serum M 1				
10,0 ccm	1,0 ccm	.	3,0 ccm	tot
5,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
1,0 "	1,0 "	.	3,0 "	tot
0,1 "	1,0 "	.	3,0 "	anaphylakt.
0,05 "	1,0 "	.	3,0 "	gesund

3. Varierung der Komplementmenge.**a) Versuche mit Eiweißantigen.**

Bei diesen Versuchen schienen sich zuerst die gleichen quantitativen Verhältnisse zu ergeben, wie bei der Varierung der anderen für die Anaphylatoxinbildung in Betracht kommenden Komponenten. Es wurden Antigen-Antikörperverbindungen in konstanten Mengen hergestellt und mit verschiedenen Komplementmengen, jedoch immer im Volumen von mindestens 3 ccm, digeriert. In der ersten Versuchsreihe wurde das Serum des Kaninchens 464, 2100 g, benutzt.

Vorbehandlung 2. I., 19. I., 31. I. 10 je 1 ccm Hammelserum intravenös.

Blutentnahme: 5. II.

Präzipitation: 1:10 000 + 1:100 000 ±.

Toxizität > 0,5 pro 100 g Tier.

Je 2 ccm dieses Serums wurden mit je 2 ccm Hammelserum 1:50 versetzt.

Zu den gewaschenen Präzipitaten wurde normales Meerschweinchenserum zugesetzt, je 4 ccm Volumen in Verdünnungen 1:0, 1:1, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100.

28. II. Mischung von Antigen und Antikörper.**1. III. Zusatz der Komplementverdünnung.****2. III. Prüfung der Giftigkeit des Komplementabgusses.**

Meerschweinchen No. V60, 195 g, erhält 2,5 ccm des unverdünnten Komplementabgusses.

6²⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,6.

Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

6³⁰ Temperatur 36,0, Tier ist munter.

Meerschweinchen V58, 205 g, erhält 3 ccm des 1:1 verdünnten Komplementabgusses.

5⁴⁶ Injektion, Temperatur vorher 38,2.

Beschleunigte Atmung, sonst keine Symptome.

6⁰⁰ Temperatur 35,4, Tier ist munter.

Meerschweinchen No. V55, 200 g, erhält 3 ccm des 1:5 verdünnten Komplementabgusses.

4²⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Tier wirft sich auf die Seite.

4³⁸ erholt.

4⁴⁰ Temperatur 35,2.

Tier krank, bleibt jedoch am Leben.

Meerschweinchen No. V 56, 205 g, erhält 3 ccm des 1:10 verdünnten Komplementabgusses.

4⁵² Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Das Tier zeigt sofort leichte Krämpfe, Lähmung der Hinterbeine.

5⁰⁰ Temperatur 35,4, Tier krank, bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. V 61, 200 g, erhält 3 ccm des 1:50 verdünnten Komplementabgusses.

6²¹ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion Atmung beschleunigt, sonst keine Symptome.

6⁴⁰ Temperatur 37,2.

Das Tier ist munter und bleibt leben.

In den folgenden Versuchen wurde als Antieiweißserum das Serum des Kaninchens 403, 2200 g, benutzt.

Vorbehandlung: 24. XII. 09, 5. I. 10 je 1,0 Hammelserum intravenös.

31. I. Blutentnahme.

Präzipitation: 1:10 000 + 1:100 000 ±.

Toxizität: 0,2 pro 100 g Tier.

Von diesem Serum wurde wiederum 2,0 mit je 2,0 Hammelserum 1:50 versetzt und zu dem Präzipitat kam je 4,0 Komplementserum in Verdünnung 1:0, 1:1, 1:5.

5. III. Mischung von Antikörper und Antigen.

6. III. Zusatz der Komplementverdünnung.

7. III. Prüfung des Komplementabgusses auf seine Giftigkeit.

Meerschweinchen No. V 69, 200 g, erhält 3 ccm des unverdünnten Komplementabgusses.

3⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Tier wirft sich auf die Seite.

3⁵⁷ Das Tier erholt, bleibt sehr matt.

4⁵ Temperatur 33,2.

Meerschweinchen No. V 70, 200 g, erhält 3 ccm des 1:1 verdünnten Komplementabgusses.

4³⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,5.

Leichte Krämpfe, Hinterbeine gelähmt.

4⁴⁰ Temperatur 33,2.

Das Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. V 71, 195 g, erhält 3 ccm des 1:5 verdünnten Komplementabgusses.

4⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

5⁵ Temperatur 36,8. Tier ist munter.

In dieser Versuchsreihe ist im Gegensatz zu der vorigen die optimale Wirkung mittlerer Komplementdosen nicht hervorgetreten.

Ob dafür das hier benutzte Antiserum verantwortlich zu machen ist, sei dahingestellt.

Jedenfalls ist es uns auch in weiteren Versuchen nicht mehr gelungen, ähnliche quantitative Verhältnisse wie bei der ersten Versuchsreihe zu erzielen.

In diesen Versuchen und in den folgenden wurden allerdings durchgehend größere Mengen Antigen verwandt. Es zeigte sich dann regelmäßig, daß die Giftigkeit proportional geht mit der Komplementmenge.

In der nachstehenden Versuchsreihe wurde das präzipitierende Serum 464 benutzt (s. oben), von dem je 2,0 mit 2,0 Hammelserum 1:10 zur Präzipitatbildung gemischt wurden.

Vom Komplement wurde zugesetzt 4 ccm der Verdünnung 1:0, 1:1, 1:5, 1:10.

1. III. Mischung von Antigen und Antikörper.
2. III. Zusatz des Komplements.
3. III. Prüfung der Giftigkeit des Komplementabgusses.

Meerschweinchen No. V 64, 205 g, erhält 3 ccm des unverdünnten Komplementabgusses.

12⁴⁸ Injektion, Temperatur vorher 38,2.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Tier wirft sich auf die Seite.

12⁵⁰ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12⁵² tot.

Meerschweinchen No. V 62, 200 g, erhält 3 ccm des 1:1 verdünnten Komplementabgusses.

11³⁷ Injektion, Temperatur vorher 38,2.

Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

11⁵⁵ Temperatur 35,8. Das Tier ist munter.

Meerschweinchen No. V 63, 195 g, erhält 3 ccm des 1:5 verdünnten Komplementabgusses.

11⁵⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

12¹⁰ Temperatur 35,6.

7³⁰ Das Tier zeigt Krämpfe und stirbt.

Meerschweinchen No. V 65, 195 g, erhält 3 ccm des 1:10 verdünnten Komplementabgusses.

12¹ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Das Tier zeigt keine Symptome.

1³¹ Temperatur 35,4, Tier vollständig munter.

In den nächsten Versuchen wurden wiederum 2 ccm des Serums 403 mit 2 ccm Hammelserum von Verdünnung 1:10 versetzt und die Präzipitate mit 5,0 Komplementserum 1:0, 1:1, 1:5 versetzt.

5. III. Mischung von Antigen und Antikörper.

6. III. Zusatz der Komplementverdünnung zum Präzipitat.

7. III. Bestimmung der Toxizität des Komplementabgusses.

Meerschweinchen No. V 66, 200 g, erhält 3 ccm des unverdünnten Komplementabgusses.

12²¹ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Sofort nach der Injektion heftige Krämpfe und Sprünge. Tier wirft sich auf die Seite.

12²⁴ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12²⁵ tot.

Meerschweinchen No. V 67, 200 g, erhält 3 ccm des 1:1 verdünnten Komplementabgusses.

12⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Keine Symptome.

12⁵⁵ Temperatur 34,0, Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. V 68, 195 g, erhält 3 ccm des 1:5 verdünnten Komplementabgusses.

1¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Keine Symptome.

1²⁵ Temperatur 33,0, Tier bleibt leben.

Das gleiche Resultat wurde in der folgenden Versuchsserie erzielt. Zur Verwendung kam wieder das Serum des Kaninchens No. 464 (s. oben). Es wurden von diesem Serum wiederum 2 ccm mit 2,0 Hammelserum 1:10 gemischt und die Präzipitate mit 0,5 Komplementserum 1:0, 1:1, 1:10 versetzt.

15. III. Mischung von Antigen und Antiserum.

16. III. Zusatz der Komplementverdünnungen.

17. III. Auswertung des Komplementabgusses auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. V 98, 200 g, erhält 3 ccm des unverdünnten Komplementabgusses.

10¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 38°.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

10²⁵ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

10²¹ tot.

Meerschweinchen No. V104, 200 g, erhält 3,0 des 1:1 verdünnten Komplementabgusses.

1⁴⁶ Injektion, Temperatur vorher 37,6°, Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

2⁰⁰ Temperatur 36,2°, Tier bleibt leben.

Meerschweinchen No. V 99, 195 g, erhält 3 ccm des 1:10 verdünnten Komplementabgusses.

10³⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,8°, keine Symptome.

10⁴⁶ Temperatur 35°, Tier bleibt leben.

In der folgenden Versuchsserie wurde das Serum des Kaninchens No. M 8 benutzt. Behandlung:

5. IV. 1,5 Hammelserum intravenös.

18. IV. 2,9 desgleichen.

19. IV. 10,0 Hammelserum intravenös.

27. IV. Blutentnahme.

Präzipitation: 1:100 000 + 1:1 000 000 ±.

Toxizität: 0,25 pro 100 g Tier,

Es wurden wiederum 2 ccm dieses Serums mit 1 ccm unverdünnten Hammelserums versetzt und zu den Präzipitaten 8,0, 3,0 und 3,0 mit Kochsalzlösung 1:10 verdünnten Komplements zugesetzt.

5. V. Mischung von Antigen und Antikörper.

6. V. Zusatz des Komplementserums.

7. V. Prüfung der Giftigkeit der Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. t 24, 200 g, erhält 3 ccm von den 8 ccm mit Präzipitat in Kontakt gewesenem Komplementserum.

12²⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6° ccm, sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wälzt sich.

12³⁵ Temperatur 34°. Das Tier bleibt völlig matt auf der Seite liegen, stirbt aber erst in der Nacht.

Meerschweinchen No. t 25, 200 g, erhält 3 ccm mit Präzipitat in Kontakt gewesenem Abgusses.

12⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8°, keine Symptome.

12⁵⁰ Temperatur 35°. Das Tier bleibt munter.

Meerschweinchen No. t 26, 200 g, erhält 3 ccm des 1:10 verdünnten Abgusses.

1¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,2°, keine Symptome.

1²⁰ Temperatur 36°. Tier bleibt munter.

b) Versuche mit Schatten.

Analog fielen die Versuche aus mit den hämolytischen Seris und Blutkörperchenschatten. In der ersten Versuchs-

serie wurde als Ambozeptor das Serum des Kaninchens C 27 (s. oben) benutzt. Es wurde je 1 ccm dieses Serums mit den Schatten von 3 ccm Blut versetzt und dann 5,0, 3,0 und 3,0 ccm 1:6 verdünnten Komplements zu den beladenen Schatten hinzugefügt.

11. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

12. IV. Zusatz des Komplements.

14. IV. Prüfung der Giftigkeit der Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. w 36, 195 g, erhält 3 ccm von den 5 mit beladenen Schatten in Kontakt gewesenen Komplementserum.

11¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,8°, sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

11¹³ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

11¹⁸ tot.

Meerschweinchen No. w 34, 200 g, erhält die 3 ccm mit beladenen Schatten in Kontakt gewesenen Komplementserums.

10²⁶ Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

10²⁷ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

10²⁸ tot.

Meerschweinchen No. w 35, 200 g, erhält die 3 ccm des 1:6 verdünnten Komplementserums.

10²⁶ Injektion, Temperatur vorher 37,8°. Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

10²⁸ Temperatur 36,2°, Tier bleibt zunächst munter, wird jedoch um 6 Uhr tot aufgefunden.

Eine weitere Versuchsserie wurde mit dem hämolytischen Serum No. 51 (s. oben) (Mengenverhältnisse von Antigen und Antikörper wie im vorigen Versuch) angestellt. Komplementmengen 8,0, 3,0 und 3,0 ccm der Verdünnung 1:6.

30. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

1. V. Zusatz des Komplementserums zu den beladenen Schatten.

2. V. Auswertung der Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. t 8, 210 g, erhält 3 ccm von den 8 mit beladenen Schatten in Kontakt gewesenen Komplementserum.

5⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,2°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

5⁴² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

5⁴⁴ tot.

Meerschweinchen No. t 9, 210 g, erhält die 3 ccm mit den beladenen Schatten in Kontakt gewesenen Komplementserums.

6¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

6¹² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

6¹⁵ tot.

Meerschweinchen No. t 10, 210 g, erhält die 3 ccm des 1:6 verdünnten Komplementserums.

6⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6°, keine Symptome.

6⁵⁰ Temperatur 36,2°. Das Tier ist munter, bleibt am Leben.

c) Versuche mit Blutkörperchen.

Auch mit Blutkörperchen wurde ein Versuch angestellt. Zur Verwendung kam das Serum des Kaninchens No. 51 (s. oben). Es wurden 1 ccm Antigen und 1 ccm Antiserum gemischt. Zusatz von 8,0, 3,0 und 3,0 1:6 verdünntes Komplementserum zu den beladenen Blutkörperchen.

25. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

26. IV. Zusatz des Komplements zu den beladenen Blutkörperchen.

27. IV. Prüfung der Giftigkeit der Komplementabgüsse.

Meerschweinchen No. w 74, 200 g, erhält 3 ccm von den 8 mit beladenen Körperchen in Kontakt gewesenen Komplementserum.

11³⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,2°. Sofort nach der Injektion Tier matt.

11⁴¹ deutliche Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite, schwere Dyspnoe.

11⁴⁸ Tier wieder erholt.

7⁰⁰ tot aufgefunden.

Meerschweinchen No. w 75, 200 g, erhält die 3 ccm mit beladenen Blutkörperchen in Kontakt gewesenen Komplementabguss.

11⁵⁶ Injektion, Temperatur vorher 37,4°, keine Symptome.

12⁰⁵ Temperatur 34,4°. Tier bleibt munter

Meerschweinchen No. w 76, 200 g, erhält 3 ccm des 1:6 verdünnten Komplementabgusses.

12⁰⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,4°, keine Symptome.

12¹⁰ Temperatur 35,8°. Tier bleibt leben.

Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.
Variierung der Komplementmenge.

Präzipit. Kan.- Serum No. 464	Hammelserum 2,0 ccm	Komplement 4,0 ccm ¹⁾	Resultat
2,0 ccm	1:50	1:0	gesund
2,0 "	1:50	1:1	gesund
2,0 "	1:50	1:5	anaphylakt.
2,0 "	1:50	1:10	anaphylakt.
3,0 "	1:50	1:50	gesund
Präzipit. Kan.- Serum 403	2,0 ccm	4,0 ccm	
2,0 ccm	1:50	1:0	anaphylakt.
2,0 "	1:50	1:1	anaphylakt.
2,0 "	1:50	1:5	gesund
Präzipit. Kan.- Serum 464	2,0 ccm	4,0 ccm	
2,0 ccm	1:10	1:0	tot
2,0 "	1:10	1:1	gesund
2,0 "	1:10	1:5	(gesund)
2,0 "	1:10	1:10	gesund
Präzipit. Kan.- Serum 403	2,0 ccm	5,0 ccm	
2,0 ccm	1:10	1:0	tot
2,0 "	1:10	1:1	gesund
2,0 "	1:10	1:5	gesund
Präzipit. Kan.- Serum 464	2,0 ccm	5,0 ccm	
2,0 ccm	1:10	1:0	tot
2,0 "	1:10	1:1	gesund
2,0 "	1:10	1:10	gesund
Präzipit. Kan.- Serum M 8			
2,0 ccm	1,0 ccm	8,0 ccm (1:0)	anaphylakt.
2,0 "	1,0 "	8,0 " (1:0)	gesund
2,0 "	1,0 "	8,0 " (1:10)	gesund
Hämol. Kan.- Serum C 27	Blutkörper- schatten		
1,0 ccm	3,0 ccm	5,0 ccm (1:0)	tot
1,0 "	3,0 "	8,0 " (1:0)	tot
1,0 "	3,0 "	8,0 " (1:6)	(gesund)

1) Die Zahlen beziehen sich auf die zur Digerierung der Antigen-Antikörperverbindungen benutzten Komplementmengen. Die Dosen betrugen durchschnittlich 3,0 (siehe Protokolle).

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. VII.

9

Hämol. Kan.- Serum 51	Blutkörper- schatten	Komplement	Resultat
1,0 ccm	3,0 ccm	8,0 ccm (1:0)	tot
1,0 „	3,0 „	3,0 „ (1:0)	tot
1,0 „	3,0 „	3,0 „ (1:6)	gesund
Hämol. Kan.- Serum 51	Blutkörper		
1,0 ccm	1,0 ccm	8,0 ccm (1:0)	anaphylakt.
1,0 „	1,0 „	3,0 „ (1:0)	gesund
1,0 „	1,0 „	3,0 „ (1:6)	gesund

4. Variierung der Zeit.

Als wir nun neben den drei Komponenten der Giftbildung auch die Zeit der gegenseitigen Einwirkung unter sonst gleichen Verhältnissen variierten, da zeigte sich wiederum mit völliger Eindeutigkeit der optimale Einfluß mittlerer Zeiten, und gerade diese Versuche geben uns auch einen Anhalt zur Erklärung der Verhältnisse bei Variierung der einzelnen Komponenten überhaupt für die Bildung des Anaphylatoxins. Es hat sich ergeben, daß weder eine zu kurze noch eine zu lang dauernde Einwirkung für die Giftbildung geeignet ist. Friedberger hat zwar in früheren Versuchen relative schnelle Giftbildung aus Präzipitaten gesehen, doch handelt es sich in diesem Falle insofern um exzeptionelle Verhältnisse, als sehr große Mengen Präzipitat und Komplement verwendet wurden. Bei den Mengeverhältnissen, wie sie auch in dem Versuche mit Variierung der Zeit entsprechend den vorhergehenden Experimenten angewendet wurden, ist von einer derartig schnellen Toxinbildung nichts zu bemerken.

Die Versuche wurden wiederum mit Hammelserum, Schatten und Blutkörperchen ausgeführt.

a) Versuche mit Antieißserum.

In der ersten Versuchsserie wurde das präzipitierende Serum des Kaninchens 24 benutzt. Gewicht 1900 g. Behandlung:

19. I. 1,8 Hammelserum intravenös.

7. III. }
25. III. } je 1 ccm Hammelserum intravenös.
30. III. }

4. IV. Entblutung.

Präzipitation: 1 : 100 000 +, 1 : 1 000 000 ±.

Toxizität wurde nicht bestimmt.

Es wurden je 2 ccm des Antieißserums mit je 1 ccm Hammelserum gemischt. Zusatz von 3 ccm Komplement. Im ganzen wurden 7 Versuche unter diesen Mengeverhältnissen angesetzt. Der Kontakt mit dem Komplementserum dauerte jeweils 10 Minuten, 45 Minuten, 6 Stunden, 1 Tag, 2 Tage, 3 Tage und 6 Tage.

8. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

9. IV. Komplementzusatz.

Prüfung der Giftigkeit zu den vorher angegebenen Zeiten.

Meerschweinchen No. w 22, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses, nach 10 Minuten Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

1⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,4°. Keine Symptome.

2° Temperatur 36,2°. Tier bleibt munter.

Meerschweinchen No. w 23, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses nach 45 Minuten Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

2° Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Keine Symptome.

2³⁰ Temperatur 36,8°. Tier bleibt munter.

Meerschweinchen No. w 24, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses, nach 6 Stunden Kontakt mit Antigen-Antikörperverbindung.

7° Injektion, Temperatur vorher 38°. Keine Symptome.

7¹⁵ Temperatur 36,4°. Das Tier bleibt munter.

Meerschweinchen No. w 26, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses nach 24-stündigem Kontakt mit Antigen-Antikörperverbindung.

10³⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wälzt sich, bleibt auf der Seite liegen.

10³⁷ Tier erhebt sich wieder.

10⁴⁰ Temperatur 36,4°. Das Tier ist noch lange matt, erholt sich aber wieder und bleibt leben.

Meerschweinchen No. w 32, 195 g, erhält 3 ccm des 2 Tage mit dem Antigen-Antikörper in Verbindung gewesenen Komplementabgusses.

1⁵⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

11⁴² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

11⁵³ tot.

Meerschweinchen No. w 33, 200 g, erhält 3 ccm des 3 Tage mit der Antigen - Antikörperverbindung in Kontakt gewesenen Komplementabgusses.

11³⁰ Injektion, Temperatur vorher 38°. Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

11³⁷ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

11³³ tot.

Meerschweinchen No. w 44, 200 g, erhält 3 ccm des 6 Tage mit dem Antigen-Antikörper in Verbindung gewesenen Komplementabgusses.

11⁵⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Das Tier hat bald nach der Injektion leichte Krämpfe.

12¹⁰ Temperatur 36,2°. Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome. Tier erholt sich etwas.

2° Tier stirbt unter Krämpfen.

In gleicher Weise verlief eine weitere Versuchsreihe, bei der von demselben Serum je 1,5 mit 2 ccm Hammelserum 1:1 verdünnt versetzt wurde. Das Komplement (3 ccm) war 24 Stunden, 4 Tage und 6 Tage mit der Antigen-Antikörperverbindung in Kontakt.

23. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

24. IV. Zusatz des Komplements.

Meerschweinchen No. w 64, 200 g, erhält den Komplementabguß nach 24-stündigem Kontakt.

11³⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,0. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

11³² Reflexe erloschen, Atmung agonal.

11³⁴ tot.

Meerschweinchen No. w 90, 200 g, erhält den Komplementabguß nach 4-tägigem Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

12⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge, Hinterbeine gelähmt.

12⁵⁵ Temperatur 34°. Das Tier ist leicht krank, erholt sich jedoch bald wieder und bleibt leben.

Meerschweinchen No. w 97, 220 g, erhält den Komplementabguß nach 6-tägigem Kontakt.

12° Injektion, Temperatur vorher 37,6. Sofort nach der Injektion leichte Krämpfe und Sprünge.

12¹⁵ Tier bereits wieder erholt, Temperatur 34,0, bleibt leben.

Daß innerhalb 6 Tagen nicht etwa die Antigen-Antikörperverbindung ungeeignet zur Giftabspaltung geworden war, ergibt sich aus der Tatsache, daß erneuter Zusatz von 3,0 Komplement zu dem 6 Tage mit Komplement in Kontakt gewesenen Präzipitat, dessen Abguß ungiftig war, in 24 Stunden wieder voll wirksames Gift lieferte.

Meerschweinchen No. w 101, 210 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 24-stündigem Kontakt mit dem vorhergehend erwähnten Präzipitat, das 6 Tage mit Komplement digeriert war.

- 11^b Injektion, Temperatur vorher 36,8°. Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.
 11^c Reflexe erloschen, Atmung agonal.
 11^d tot.

Bei einer erneuten 24-stündigen Digerierung dieses Präzipitats mit Komplement hat die Giftigkeit wieder abgenommen. Das zeigt der folgende Versuch:

Meerschweinchen No. w 102, 200 g, erhält diesen Abguß.

- 10⁸⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,2°. Atmung etwas beschleunigt.
 Keine Symptome.
 10⁵⁰ Tier etwas matt, stirbt in der Nacht.

b) Versuche mit Schatten.

In analoger Weise wie die Versuche mit Eiweiß-Anti-eiweiß als Matrix des Giftes verliefen die Versuche mit hämolytischem Serum und Blutkörperchenschatten. Als Serum wurde das Serum des Kaninchens C 27 (siehe oben) benutzt. Es wurde je 7mal 1 ccm hämolytischen Serums mit dem Schatten von 3 ccm Blut versetzt. Zusatz von je 3 ccm Komplement zu den beladenen Schatten. Prüfung der Giftigkeit nach 10 Minuten, 6 Stunden, 12 Stunden, 36 Stunden, 3 Tagen, 4 Tagen, 6 Tagen.

18. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

19. IV. Komplementzusatz.

Meerschweinchen No. w 49, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 10 Minuten Kontakt.

- 10¹⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Keine Symptome.
 10³⁰ Temperatur 36,8°. Tier bleibt munter.

Meerschweinchen No. w 50, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 6 Stunden Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

- 4¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 38°. Keine Symptome.
 4²⁰ Temperatur 36,4°. Tier bleibt munter.

Meerschweinchen No. w 51, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 12 Stunden Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

- 10⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8°. Keine Symptome.
 10¹⁵ Temperatur 34°. Tier etwas matt, erholt sich jedoch bald wieder und bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. w 54, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 36 Stunden Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

- 10⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,8°. Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite.

10⁷ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

10⁸ tot.

Meerschweinchen No. w 57, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 3 Tagen Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

10²⁰ Injektion, Temperatur vorher 38°. Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

10²³ Tier steht wieder auf, erholt sich etwas.

10³⁰ Temperatur 34,5°. Tier noch sehr matt, bleibt jedoch leben.

Meerschweinchen No. w 58, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 4 Tagen Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

6⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 38°. Bald nach der Injektion sehr leichte Krämpfe, Atmung etwas beschleunigt.

6⁸ Temperatur 36°.

6¹⁵ Tier wieder munter.

Meerschweinchen No. w 71, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 6 Tagen Kontakt mit der Antigen-Antikörperverbindung.

11⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6°. Dyspnoë und Mattigkeit, sonst keine Symptome.

11¹⁰ Temperatur 33,6°.

4⁰⁰ Tier liegt auf der Seite.

5⁰⁰ tot.

Der verspätete Tod mit dem Abguß nach 6 Tagen Kontakt war in diesem Falle wohl darauf zurückzuführen, daß das Komplementserum stark mit Bakterien verunreinigt war. Daß das jedoch die Anaphylatoxinbildung nicht hemmte, ergibt sich aus der Tatsache, daß erneuter Zusatz von Komplementserum zu dem Bodensatz nach 38 Stunden wieder ein vollwirksames akutes Gift lieferte, wie der folgende Versuch zeigt.

Meerschweinchen No. w 88, 210 g, erhält 3,0 Komplementabguß des vorher erwähnten, bereits 6 Tage lang mit Komplement digerierten Präzipitats nach 38 Stunden Kontakt.

12⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 38°. Sofort nach der Injektion deutliche Sprünge und Krämpfe, das Tier wirft sich auf die Seite.

12² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

12⁴ tot.

Bei nochmaligem 40-stündigem Kontakt des Bodensatzes mit 3 ccm normalem Meerschweinchenserum wurde wiederum ein giftiger Abguß erzielt.

Meerschweinchen No. w 95, 200 g, erhält 2,5 des Abgusses von dem oben erwähnten Bodensatz.

11⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,6°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge, Hinterbeine gelähmt.

11⁰⁰ Temperatur 33,2°. Das Tier ist sehr krank.

2⁰⁰ tot.

c) Versuche mit Blutkörperchen.

Wie bei Variierung des Antigens und Antikörpers zeigen auch hier die Blutkörper ein ganz anderes Verhalten als die Schatten und die Eiweißantigene.

Es zeigt sich, daß im Gegensatz zu den Versuchen mit jenen Antigenen in kürzester Zeit die Giftbildung eintritt und dann so lange anhält wie dort.

Da wir aus dem Resultat der Schattenversuche wohl annehmen können, daß innerhalb der kurzen Zeit von 10 Minuten keine einigermaßen nennenswerte Mengen von Anaphylatoxin aus den Stromata freigemacht werden, so ist die Vergiftung wohl in erster Linie auf das Hämoglobin zurückzuführen.

Im nachstehenden folgt eine Versuchsreihe mit Blutkörperchen.

Es wurde wiederum je 1 ccm gewaschener Blutkörperchen versetzt mit 1 ccm des Serums C 27 (s. oben).

Zusatz von 3 ccm Komplement; Giftprüfung der Abgüsse nach 10 Minuten, 6, 24 Stunden, 2, 4, 6 Tagen.

19. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

20. IV. Komplementzusatz zu den beladenen Blutkörperchen.

Meerschweinchen No. W 52, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 10 Minuten Kontakt.

11⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion leichte Krämpfe, Hinterbeine gelähmt.

11³⁰ erneute Krämpfe und Sprünge, Tier wirft sich auf die Seite, Schaumaustritt aus der Nase.

11³⁸ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

11³⁸ tot.

Meerschweinchen No. W 53, 195 g, erhält 3 ccm des 6 Stunden in Kontakt gewesenen Komplementabgusses.

5⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion Sprünge und Krämpfe. Das Tier wirft sich auf die Seite.

5⁴⁸ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

5⁴⁹ tot.

Meerschweinchen No. W 55, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 24-stündigem Kontakt.

11⁸⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

11⁸² agonale Atmung, Reflexe erloschen.

11⁸³ tot.

Meerschweinchen No. W 56, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 2-tägigem Kontakt.

11⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,2.

Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

11² agonale Atmung, Reflexe erloschen.

11³ tot.

Meerschweinchen No. W 62, 200 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 4-tägigem Kontakt.

11⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

11¹⁰ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

11¹³ tot.

Meerschweinchen No. W 72, 185 g, erhält 3 ccm Komplementabguß nach 6-tägigem Kontakt.

11²⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Das Tier zeigt leichte Krämpfe.

11²⁷ Temperatur 33,2.

Tier ist sehr matt.

4⁰⁰ tot.

Zu der letzterwähnten Antigen-Antikörperverbindung wurde nochmals Komplement (3,0) hinzugesetzt und nach 24-stündigem Kontakt die Giftigkeit geprüft.

Meerschweinchen No. W 80, 210 g, erhält den betreffenden Abguß.

12⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Das Tier legt sich auf die Seite.

12³⁰ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12⁴⁰ tot.

Derselbe Versuch wurde noch zweimal wiederholt, erst bei der letzten Digerierung wurde keine tödliche Giftdosis mehr erzielt.

Vergleichen wir die Blutkörperversuche speziell mit den vorausgegangenen mit Schatten, so sehen wir die auffallende Tatsache, daß bei annähernd den gleichen Verhältnissen von Antigen und Antikörper die Giftbildung hier bereits innerhalb 10 Minuten erfolgte, dort sicher mehr als 12 Stunden dazu notwendig waren. Das zeigt uns zur Evidenz, daß das Gift in den Blutkörperversuchen nicht ausschließlich aus der Antigen-Antikörperverbindung entstanden sein kann. Sonst müßte ja auch bei den Schatten unter sonst identischen Bedingungen eine gleich intensive Anaphylatoxinbildung stattgefunden haben.

Wir müssen auch hier notwendigerweise die intensivere Wirkung der Blutkörperchen zum größeren Teil dem Hämoglobin zuschreiben, ja vielleicht sogar in den ersten Versuchen die ausschließliche Wirkung. Denn in Anbetracht dessen, daß die Giftabspaltung aus dem Stromata mindestens 12 Stunden braucht, können wir kaum annehmen, daß nach 10 Minuten überhaupt nennenswerte Mengen in Lösung gegangen sind.

Die Versuche zeigen zugleich wiederum, wie schwer die Deutung von Anaphylatoxinversuchen mit Blutkörperchen ist und wie nötig es ist, sie durch Experimente mit Schatten zu ergänzen. Es ist schon im Eingang darauf hingewiesen worden, wie sehr diese Verhältnisse die Deutung der Resultate von Friedemann erschweren, um so mehr, als es nach ihm sogar gelingt, durch destilliertes Wasser und „überhaupt durch unspezifische Eingriffe aus den Erythrocyten Giftstoffe zu extrahieren“.

Die Versuche mit Variierung der Zeit sind nochmals in Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV.
Variierung der Zeit.

Präzip. Kan.- Serum No. 24	Hammelserum	Komplement	nach	Resultat
2,0 ccm	1,0 ccm	3,0 ccm	10 Min.	gesund
2,0 "	1,0 "	3,0 "	45 "	gesund
2,0 "	1,0 "	3,0 "	6 Std.	gesund
2,0 "	1,0 "	3,0 "	24 "	anaphyl.
2,0 "	1,0 "	3,0 "	2 Tagen	tot
2,0 "	1,0 "	3,0 "	3 "	tot
2,0 "	1,0 "	3,0 "	6 "	anaphyl.
Hämol. Kan.- Serum C 27	Blutkörper- Schatten			
1,0 ccm	3,0 ccm	3,0 ccm	10 Min.	gesund
1,0 "	3,0 "	3,0 "	6 Std.	gesund
1,0 "	3,0 "	3,0 "	12 "	gesund
1,0 "	3,0 "	3,0 "	36 "	tot
1,0 "	3,0 "	3,0 "	3 Tagen	anaphyl.
1,0 "	3,0 "	3,0 "	4 "	leicht anaphyl.
1,0 "	3,0 "	3,0 "	6 "	gesund
	Blutkörper			
1,0 ccm	1,0 ccm	3,0 ccm	10 Min.	tot
1,0 "	1,0 "	3,0 "	6 Std.	tot
1,0 "	1,0 "	3,0 "	24 "	tot
1,0 "	1,0 "	3,0 "	2 Tagen	tot
1,0 "	1,0 "	3,0 "	4 "	tot
1,0 "	1,0 "	3,0 "	6 "	leicht anaphyl.

Wenn wir von den abnormen Verhältnissen bei Blutkörperchen absehen, so zeigen uns die übrigen Reagenzglasversuche, daß es unter den von uns gewählten Mengenverhältnissen eine relativ beträchtliche Zeit dauert, bis das Anaphylatoxin in tödlicher Dosis abgespalten ist. Andererseits ist ein zu langer Kontakt des Komplementserums mit dem Präzipitat direkt schädlich.

Es wäre denkbar, daß mit der Zeit ein weiterer Abbau des Anaphylatoxins statthätte und eine Ueberführung des Anaphylatoxins in ungiftige Körper.

Es wäre auch denkbar, daß das Anaphylatoxin, dem ja nach den Untersuchungen Friedbergers eine gewisse Labilität zukommt, mit der Zeit wieder zerstört würde.

Wie sich aus den oben erwähnten Versuchen ergibt, gelang es uns keineswegs, unter allen Mengenverhältnissen die Giftbildung zu erzielen. Nicht selten fanden wir auch Mischungen, die, obwohl es nach den Erfahrungen in den vorausgegangenen Versuchen zu erwarten war, keine für die Giftbildung brauchbare Matrix bildeten. In solchen Versuchen haben wir nun konstant die Beobachtung gemacht, daß die wiederholte Digerierung der Antigen-Antikörperverbindung regelmäßig, sei es auch erst das dritte oder vierte Mal, schließlich doch eine genügende Toxinausbeute lieferte, um den akuten Tod des Tieres herbeizuführen.

Im nachstehenden folgen derartige Versuche.

a) Versuch mit Antieißseris.

Es wurden 1 ccm des präzipitierenden Serums 24 (siehe oben) mit 2 ccm Hammelserum 1:1 gemischt. Das entstandene Präzipitat diente als Matrix in den nachstehenden Versuchen.

5. IV. Mischung von Antikörper und Antigen.
6. IV. Zusatz von 4 ccm Komplement.
7. IV. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 15, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses.

11⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Keine Symptome.

12⁰⁰ Temperatur 36,0. Das Tier bleibt munter.

Das Präzipitat wurde mit Kochsalzlösung gewaschen und wiederum mit 4 normalen Meerschweinchenserum versetzt.

8. IV. Prüfung des Abgusses.

Meerschweinchen No. W 17, 200 g, erhält 2 ccm des Abgusses.

10⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,2.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

10⁷ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

10⁸ tot.

In dem nachstehenden Versuch wurde das Serum des Kaninchens 44, 2000 g, benutzt.

Vorbehandlung: 6. II. } 1 ccm Hammelserum pro Kilo-
22. III. } gramm intravenös.
29. III. }

10. IV. Blutentnahme.

Präzipitation: 1 : 100 000 +, 1 : 1 000 000 —.

Toxizität: 1,0 pro 100 g Tier.

Es wird 1 ccm dieses Serums mit 2 ccm Hammelserum (1:10) gemischt und das Präzipitat mehrmalig mit Komplement digeriert.

25. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

26. IV. Zusatz des Komplementes (3,0 ccm) zum Präzipitat.

27. IV. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 81, 200 g, erhält den Komplementabguß.

5⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Keine Symptome.

5³⁰ Temperatur 36,4.

Tier bleibt munter.

Das Präzipitat wurde nochmals gewaschen und mit 3 ccm Meerschweinchenserum versetzt.

28. IV. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 93, 210 g, erhält den Komplementabguß.

5⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Das Tier zeigt keine Symptome.

5⁵⁰ Temperatur 36,8.

Das Präzipitat wird wiederum mit 3 ccm Komplementserum versetzt.

29. IV. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 98, 200 g, erhält den Komplementabguß.

10¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,2.

Keine Symptome.

10²⁰ Temperatur 37,0.

Das Präzipitat wird wiederum gewaschen und mit 3 ccm Komplementserum versetzt.

30. IV. Prüfung des Komplementabgusses auf seine Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 100, 210 g, erhält den Komplementabguß.

12³⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

12³⁷ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12³⁸ tot.

Das Präzipitat wird nach Waschung wiederum mit 3 ccm Komplement versetzt.

1. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 3, 200 g, erhält den Komplementabguß.

10¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

10¹⁵ Tier wieder erholt, Temperatur 34,0.

11¹⁰ Tier matt und bleibt am Leben.

Ein weiterer Versuch wurde angestellt mit der gleichen Menge desselben Antieißserum und 2 ccm Hammelserumverdünnung 1:1 statt 1:10. Komplementzusatz wiederum 3 ccm.

25. IV. Mischung von Antigen und Antikörper.

26. IV. Komplementzusatz.

27. IV. Prüfung des Komplementabgusses auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 82, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses.

5²⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Keine Symptome.

5³⁰ Temperatur 36,0. Tier bleibt munter und leben.

Das Präzipitat wurde nochmals gewaschen und wiederum mit 3 ccm Komplement versetzt.

28. IV. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 91, 210 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses.

1¹⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Keine Symptome.

1²⁰ Temperatur 35,6. Tier bleibt leben.

Das zuvor gewaschene Präzipitat wurde wiederum mit 3 ccm Komplement versetzt.

Meerschweinchen No. W 94, 190 g, erhält den Abguß.

10⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

10¹² Tier erholt sich, ist sehr matt, bleibt leben.

Das Präzipitat wird nach Waschung wiederum mit 3 ccm Komplement versetzt.

30. IV. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. W 99, 200 g, erhält den Komplementabguß.

12⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

12⁴¹ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

12⁴² tot.

Das Präzipitat wurde wieder gewaschen und mit 3 ccm Komplement versetzt.

1. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 1, 210 g, erhält den Komplementabguß.

10²⁰ Injektion, Temperatur 37,0.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

10²⁸ Tier erholt, bleibt matt.

11²⁸ Temperatur 34,6. Tier sehr matt, stirbt in der Nacht.

b) Versuche mit Schatten.

Ganz in analoger Weise verliefen zwei Versuchsreihen mit Blutkörperchenschatten.

In der ersten Versuchsreihe wurde 0,1 des Serums Kaininchen 51 mit Schatten von 3 ccm Blut gemischt und 3,0 Komplement zu den beladenen Schatten hinzugesetzt.

3. V. Mischung von Antikörper und Antigen.

4. V. Zusatz des Komplements.

5. V. Prüfung der Giftigkeit des Abgusses.

Meerschweinchen No. T 17, 200 g, erhält den Komplementabguß.

10³⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Keine Symptome.

10⁴⁰ Temperatur 35,5. Tier munter, bleibt leben.

Nach Waschung wird das Präzipitat nochmals mit 3 ccm Komplement versetzt.

6. V. Prüfung der Giftigkeit des Abgusses.

Meerschweinchen No. T 21, 200 g, erhält den Komplementabguß.

1³⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,4.

1⁴⁵ Temperatur 36.

4⁰ Tier sehr krank, sonst keine Symptome.

5⁰ Tier wird tot aufgefunden.

Die beladenen Schatten wurden gewaschen und wiederum mit 3,0 Komplement versetzt.

7. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 23, 200 g, erhält den Komplementabguß.

11⁵⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,0.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

12⁰ schwere Dyspnoe.

12¹⁵ tot.

Die beladenen Schatten wurden nochmals gewaschen und mit 3 ccm Komplement versetzt.

8. V. Prüfung der Giftigkeit des Abgusses.

Meerschweinchen No. T 27, 200 g, erhält den Komplementabguß.

11¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,2.

Keine Symptome.

11²⁰ Temperatur 37,2. Tier ist munter.

In der folgenden Versuchsreihe wurde dasselbe Serum, jedoch in einer Menge von 0,8 benutzt. Die Schatten wurden wiederum mit 3 ccm Komplement versetzt.

3. V. Mischung von Antigen und Antikörper.

4. V. Komplementzusatz.

5. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 18, 210 g, erhält den Komplementabguß.

11⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8.

Sofort Krämpfe und Sprünge. Tier wirft sich auf die Seite.

11⁵ erholt.

11⁸⁰ Temperatur 35,8. Tier bleibt leben.

Die beladenen Schatten wurden wiederum gewaschen und mit 3 ccm Komplement versetzt.

6. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 20, 200 g, erhält den Komplementabguß.

11²⁸ Injektion, Temperatur vorher 37,6.

Sofort nach der Injektion Krämpfe und Sprünge.

11³⁰ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

11³¹ tot.

Die beladenen Schatten wurden wiederum gewaschen und mit 3 ccm Komplement versetzt.

7. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 22, 205 g, erhält den Komplementabguß.

11³⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,0.

Sofort nach der Injektion leichte Krämpfe.

11⁴⁰ Temperatur 36,0.

Tier munter und bleibt leben.

Diese Versuche ergeben übereinstimmend das Resultat, das unter Mengenverhältnissen von Antigen und Antikörper, bei denen eine primäre Giftabspaltung nicht gelingt, durch erneute Zufuhr von Komplement schließlich doch ein giftiger Abguß erzielt wird.

Es war auch auf die Dauer nicht möglich, trotz größter Sorgfalt, sterile Abgüsse zu erzielen, und es lag nahe, das allmähliche Giftigwerden auf eine Bakterieninfektion zurückzuführen.

Abgesehen davon, daß die schließlich erzielten Abgüsse ganz ebenso unter den bekannten Symptomenbild der Anaphylaxie akut töteten, wie wir das bei saprophytischen Bakterien niemals sehen, spricht dagegen der Umstand, daß mit fortlaufender Zeit die Giftigkeit wieder abnimmt. Das wäre schwer zu verstehen, wenn Bakterien bei der akuten Giftwirkung wirklich in Frage kämen, dann hätte doch die Giftigkeit eine Zunahme erfahren müssen. Ferner spricht gegen den Einfluß bakterieller Verunreinigung noch folgender Versuch. Wir überimpften aus den verunreinigten Antigen-Antikörperverbindungen direkt in normales Meerschweinchen-serum. Nachdem 4 Tage lang die Bakterien im Brutschrank zu reichlicher Entwicklung gekommen waren, injizierten wir die abzentrifugierte Flüssigkeit normaler Meerschweinchen.

Da traten denn keine Symptome akuter Vergiftung ein, die Tiere erlagen zum Teil erst nach längerer Zeit der Einwirkung der im Organismus sich vermehrenden Keime.

Wir möchten die Spätwirkung bei der Digerierung primär für die Giftbildung ungeeigneter Antigen-Antikörperverbindungen darauf zurückführen, daß erst allmählich eine Aufschließung statthatt und damit die Bildung einer tödlichen Anaphylatoxindosis. Wir haben dabei allgemein die Beobachtung gemacht, daß aus reichlicherem Präzipitat in kürzerer Zeit die Giftabspaltung eintritt als aus kleinerem.

Die Resultate dieser Versuche sind in der nachstehenden Tabelle V nochmals zusammengestellt.

Tabelle V.

Wiederholte Digerierung der Antigen-Antikörperverbindungen.

Präzipit. Kan.-Ser. No. 24.	Ham- mel-Ser.	Kom- ple- ment I	Resul- tat I	Kom- ple- ment II	Resul- tat II	Kom- ple- ment III	Resul- tat III	Kom- ple- ment IV	Resul- tat IV	Kom- ple- ment V	Resul- tat V
1,0 ccm	1,0 ccm	4 ccm	gesund	4 ccm	tot	—	—	—	—	—	—
Präzipit. Kan.-Ser. No. 44	Ham- mel-Ser.										
1,0 ccm	0,2 ccm	3 ccm	gesund	3 ccm	gesund	3 ccm	gesund	3 ccm	tot	3 ccm	anaph.
1,0 „	1,0 „	3 „	gesund	3 „	gesund	3 „	anaph.	3 „	tot	3 „	anaph.
Hämolyt. Kan.-Ser. No. 51	Blut- körper- schatten										
0,1 ccm	3 ccm	3 ccm	gesund	3 ccm	gesund	3 ccm	anaph.	3 ccm	gesund	—	—
0,8 „	3 „	3 „	ana- phyl.	3 „	tot	3 „	leicht anaph.	—	—	—	—

Schon Friedberger hat gezeigt, daß man auch bei mehrmaliger Ausfällung primär wirksamer Präzipitate bis zu einem gewissen Grad immer wieder giftigen Abguß erhalten kann. Wir haben diese Versuche noch in größerem Umfange fortgesetzt.

a) Versuche mit Eiweiß.

Zu diesen Versuchen wurde das Serum des Kaninchens 463, 3050 g, benutzt. Vorbehandlung:

2. I. 10. }
19. I. 10. } je 1 ccm Hammelserum.
31. I. 10. }

5. II. 10. Blutentnahme.

Präzipitation: 1:1000 + 1:10000 ±

Toxizität: > 0,5 pro 100 g Tier.

Von diesem Serum wurden zunächst 2,0 ccm mit 2,0 Hammelserum 1:10 versetzt.

9. III. 10. Mischung von Antigen und Antikörper.

10. III. 10. Zusatz von 4 ccm Komplementserum zum Präzipitat.

11. III. 10. Prüfung auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. v 76, 190 g, erhält 3 ccm des Komplementabgußes.

12⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 38,2°. Sofort nach der Injektion schwere Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

12⁰⁵ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

12¹⁰ tot.

Das Präzipitat wird nach Waschung wieder mit 3,5 Komplement versetzt.

12. III. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. v 84, 200 g, erhält den Abguß.

5⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8°, bald nach der Injektion leichte Krämpfe.

5⁰⁵ Temperatur 34,2°. Tier noch recht matt und krank, erholt sich jedoch allmählich wieder.

Das Präzipitat wird wiederum nach Waschung mit 3,5 Komplementserum versetzt, Giftigkeitsprüfung am folgenden Tag.

Meerschweinchen No. v 91, 200 g, erhält den Komplementabguß.

12⁴⁵ Injektion, Temperatur vorher 37,4. Sofort nach der Injektion leichte Krämpfe.

12⁵⁵ Temperatur 35°. Das Tier bleibt leben.

In der folgenden Versuchsreihe wurden wiederum 2 ccm des präzipitierenden Serums mit 2 ccm Hammelserum 1:1 verdünnt versetzt.

9. III. 10. Mischung von Antigen und Antikörper.

10. III. 10. Zusatz des Komplementserums.

11. III. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. v 75, 195 g, erhält den Komplementabguß.

11⁴⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,4°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

11⁴³ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

11⁴⁴ tot.

Das Präzipitat wird nach Waschung wiederum mit 3,5 Komplement versetzt.

12. III. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. v 86, 200 g, erhält den Komplementabguß.

5⁵⁸ Injektion. Temperatur vorher 37,6°. Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

5⁵⁸ Reflexe erloschen, Atmung agonal.

6⁰⁰ tot.

Das Präzipitat wird nach Waschung wiederum mit 3,5 ccm Komplement versetzt.

13. III. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. v 89, 200 g, erhält den Komplementabguß.

12⁰⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,4°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

12² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

12⁴ tot.

Das Präzipitat wird nach Waschung wiederum mit 3,5 ccm Komplement versetzt.

14. III. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. v 94, 205 g, erhält den Komplementabguß.

12⁷ Injektion, Temperatur vorher 38,2°. Keine Symptome.

12¹⁵ Temperatur 33,2°. Tier völlig munter, stirbt jedoch in der Nacht.

Auch in einer weiteren Versuchsreihe, bei der 1,0 präzipitierenden Serums mit 2,0 Hammelserum versetzt wurde, wurde ein vollkommen identisches Resultat erzielt, dahin gehend, daß erst bei der vierten Digerierung das Präzipitat kein Gift mehr lieferte.

b) Versuche mit Schatten.

Zu diesen Versuchen wurde das hämolytische Serum No. 51 (s. oben) benutzt.

Es wurde zunächst 1 ccm des Serums mit 2,0 der Schatten versetzt.

13. V. 10. Mischung von Antigen und Antikörper.
14. V. 10. Zusatz von 3,0 Komplementserum.
15. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 34, 200 g, erhält den Komplementabguß.

10¹⁵ Injektion. Temperatur vorher 38°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

10²⁰ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

10²⁵ tot.

Die beladenen Schatten werden wiederum mit 3,0 Komplementserum versetzt.

16. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 47, 195 g, erhält den Komplementabguß.

11⁴⁰ Injektion. Temperatur vorher 37,6°. Sofort nach der Injektion leichte Krämpfe und Sprünge.

11⁵⁰ Temperatur 35°, Tier matt, erholt sich jedoch wieder und bleibt leben.

Die beladenen Schatten werden wiederum nach Waschung mit 3,0 Komplement versetzt.

17. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 53, 200 g, erhält den Komplementabguß.

5¹⁵ Injektion. Temperatur vorher 36°. Das Tier ist munter, bleibt leben.

Zu dem folgenden Versuche wurde 1 ccm des Serums 51 mit den Schatten von 3,0 Blut versetzt.

15. V. 10. Mischung von Antigen und Antikörper.
16. V. 10. Zusatz von 3,0 Komplementserum.
17. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 32, 200 g, erhält den Komplementabguß.

9⁵⁰ Injektion. Temperatur vorher 37,8°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

9⁵⁵ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

9⁶⁴ tot.

Die beladenen Schatten werden nach Waschung wiederum mit 3,0 Komplement versetzt.

16. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

10*

Meerschweinchen No. t 46, 200 g, erhält den Komplementabguß.

11⁸⁰ Injektion, Temperatur vorher 37,8. Deutliche Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

11⁸⁴ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

11⁸⁶ tot.

Die beladenen Schatten werden wiederum mit 3,0 ccm Komplementserum versetzt.

17. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 52, 190 g, erhält den Komplementabguß.

5⁰⁰ Injektion. Temperatur vorher 37,2°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

5² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

5³ tot.

Die beladenen Schatten werden wiederum mit 3,0 ccm Komplement digeriert.

19. V. 10. Prüfung des Abgusses auf Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 57, 210 g, erhält den Komplementabguß.

6⁰⁰ Injektion. Temperatur vorher 37,6°. Sofort nach der Injektion deutliche Krämpfe und Sprünge, das Tier wirft sich auf die Seite.

6³³ Atmung agonal, Reflexe erloschen.

6⁵⁴ tot. Bei der Sektion Lungenstarre und Blähung.

Die beladenen Schatten werden wiederum mit 3,0 Komplement versetzt.

20. V. 10. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. t 59, 210 g, erhält den Abguß.

9⁰⁰ Injektion. Temperatur vorher 38°. Tier zeigt nur ganz leichte Krämpfe und Sprünge, erholt sich jedoch bald wieder.

9⁵ Temperatur 35,4. Tier bleibt leben.

Wir sehen also, daß im Gegensatz zu der mit einer kleineren Menge von Schatten hergestellten Antigen-Antikörperverbindung es bei Verwendung größerer Mengen 6mal hintereinander gelang, eine wirksame Dosis Gift zu extrahieren.

Ganz genau in der gleichen Weise verlief ein Versuch mit analogen Mengen von hämolytischem Serum und Blutkörperchen, indem auch 4mal hintereinander die Antigen-Antikörperverbindung giftig war und das 5. Mal kein Gift mehr lieferte.

Die Resultate folgen in der nebenstehenden Tabelle VI.

Wie schon Friedberger bei der Ausfällung von Präzipitaten mit Komplementserum festgestellt hat, wird durch vorherige Inaktivierung des Komplements die Giftbildung verhütet. Analoge Versuche stellten wir nun mit Blutkörperchen und mit Schatten an und erhielten das gleiche Resultat. Es wurden die Schatten von je 3 ccm Blut 4mal mit je 1 ccm des hämolytischen Serums C 51 (s. oben) beladen. Dann wurde in einem Versuch aktives und in zwei Versuchen inaktiviertes (30 Minuten auf 60°) Meerschweinchenserum zugesetzt. In einem vierten Versuch 3 ccm Kochsalzlösung statt Komplement.

1. V. Mischung von Antigen und Antikörper.

2. V. Zusatz des Komplements resp. inaktivierten Meerschweinchenserums resp. Kochsalzlösung.

3. V. Prüfung der Giftigkeit.

Meerschweinchen No. T 11, 200 g, erhält 3 ccm des aktiven Komplementabgusses.

5¹⁰ Injektion, Temperatur vorher 37.2. Sofort nach der Injektion starke Krämpfe und Sprünge. Das Tier wirft sich auf die Seite.

5¹² Atmung agonal, Reflexe erloschen.

5¹³ tot.

Tabelle VI.

Präzipitierend. Kan.-Serum No. 463	Hammel- serum	Kompl. I	Resultat I	Kompl. II	Resultat II	Kompl. III	Resultat III	Kompl. IV	Resultat IV	Kompl. V	Resultat V	Kompl. VI	Resultat VI
2 ccm	0,2 ccm	4 ccm	tot	3,5 ccm	anaphyl.	3,5 ccm	leicht anaphyl.	—	—	—	—	—	—
2 "	1,0 "	4 "	tot	3,5 "	tot	3,5 "	tot	3,5 ccm	gesund	—	—	—	—
Hammel- Kan.-Serum No. 51	Blutkörper- Schatten												
1 ccm	3 ccm	3 ccm	tot	3 ccm	tot	3 ccm	tot	3 ccm	tot	3 ccm	tot	3 ccm	anaphyl.
1 "	2 "	3 "	tot	3 "	anaphyl.	3 "	gesund	—	—	—	—	—	—

Meerschweinchen No. T12, 200 g, erhält 3 ccm des inaktivierten Komplementabgusses.

6³⁵ Injektion. Temperatur vorher 37,6.

Keine Symptome. Das Tier bleibt leben.

6⁴⁰ Temperatur 34,0.

Meerschweinchen No. T13, 200 g, erhält 3 ccm des inaktivierten Komplementabgusses.

7¹⁵ Injektion. Temperatur vorher 37,4.

Atmung etwas beschleunigt, sonst keine Symptome.

7²⁰ Temperatur 34,0.

Meerschweinchen No. T14, 200 g, erhält 3 ccm Kochsalzlösung.

7³⁵ Injektion. Temperatur vorher 37,6. Keine Symptome.

7⁴⁰ Temperatur 36,2. Das Tier ist munter.

Aus unseren Protokollen ergibt sich schon, daß die Symptome, wie sie sich dem Untersucher bei der akuten Anaphylatoxinvergiftung darbieten, ganz typisch sind. Das Symptomenkomplex der Vergiftung durch Anaphylatoxin unterscheidet sich in nichts von dem bei der als aktive und passive Anaphylaxie bezeichneten Versuchsanordnungen der primären Antiserumwirkung (Friedberger - Castelli).

Auch die objektiv meßbaren Symptome, Temperatursturz, Leukopenie, Verzögerung der Blutgerinnung sind, wie nachstehend noch gezeigt werden soll, vorhanden. Nur die Komplementverarmung fehlt, wie Friedberger gezeigt hat, oder ist eine ganz minimale. Wir möchten sie in diesen Fällen als eine sekundäre betrachten, verursacht durch die Verdünnung, die das Meerschweinchenblut bei der Injektion des Anaphylatoxins durch die Zufuhr einer relativ großen Flüssigkeitsmenge erfährt.

Da ja in unseren Versuchen das fertige Gift eingespritzt wird, so ist eine Komplementablenkung im Organismus nicht mehr zu erwarten, wie sie sonst bei der Bildung des Giftes regelmäßig eintritt.

Bezüglich des Temperatursturzes verweisen wir auf die Messungen, die in den verschiedenen Versuchsprotokollen vermerkt sind. Auch die Leukopenie und die Verzögerung der Blutgerinnung haben wir in einzelnen Fällen untersucht, wenn auch bei der völligen Eindeutigkeit der Resultate nicht regelmäßig. Wir führen nur einige entsprechende Versuche hier an.

Meerschweinchen No. 82, 200 g, erhält 3 ccm des Komplementabgusses, stammend von einem Präzipitat aus 2 ccm präzipitierenden Serums und 2 ccm Hammelserums.

Geringe Symptome.

Zahl der Leukocyten vor der Injektion 5460, 10 Minuten nach der Injektion 3440, nach 45 Minuten 5500.

Gerinnungszeit des Blutes vorher 1 Minute 54 Sekunden.

10 Minuten nach der Injektion 2 Minuten 5 Sekunden.

Meerschweinchen No. 83, 200 g, erhält den Abguß von einem Präzipitat, das mit 3 ccm Antiserum und 2,0 Hammelserum hergestellt war.

6⁰⁰ Injektion. Typische Anaphylaxie mit Krämpfen und Sprüngen.

7¹⁰ Tier ist noch sehr matt, zittert, erholt sich jedoch bald wieder.

Leukocyten vor der Injektion 7200.

10 Minuten nach der Injektion 2600.

45 Minuten nach der Injektion 6400.

Gerinnungszeit des Blutes vorher: 1 Minute 6 Sekunden.

10 Minuten nach der Injektion: 2 Minuten 11 Sekunden.

Das Präzipitat wurde nochmals mit 3,0 Komplement versetzt, der Abguß nach 24 Stunden geprüft.

Meerschweinchen No. 85, 200 g, erhält den Abguß.

4³⁰ Injektion. Sofort schwere Krämpfe und Sprünge.

4⁵⁵ tot.

Zahl der Leukocyten vor der Injektion 6800.

Zahl der Leukocyten in der Agone 3000.

Gerinnungszeit vorher 2 Minuten.

In der Agone 2 Minuten 15 Sekunden.

Wir haben also auch hier vollkommene Uebereinstimmung mit der aktiven und passiven Anaphylaxie.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über die Verhältnisse der Anaphylatoxinbildung aus Eiweiß, Blutkörperchen und Blutkörperchenschatten bei Variierung der für die Giftbildung in Betracht kommenden Komponenten.

Wenn wir auf Grund der in dieser Arbeit niedergelegten Befunde das Anaphylatoxin für identisch erklären mit dem bei der aktiven und passiven Anaphylaxie entstehenden Gift, so veranlassen uns hierzu folgende Momente:

1) Die subjektiven Symptome der Vergiftung sind dieselben wie bei der aktiven und passiven Anaphylaxie.

2) Die objektiven meßbaren Symptome sind identisch¹⁾ (Temperatursturz, Verzögerung der Blutgerinnung, Leukopenie).

3) Das Anaphylatoxin im Reagenzglas wird aus denselben Komponenten gebildet, die auch, wie Friedberger zuerst gezeigt hat, bei der aktiven und passiven Anaphylaxie miteinander in Reaktion treten, d. h. Antigen, Antikörper und Komplement.

4) Auch die Mengen von Antigen, die im Reagenzglasversuch nötig sind, um eine wirksame Giftdosis zu erzeugen, sind nur um wenig größer als die Grenzdosen bei der Reinjektion aktiv und passiv präparierter Tiere. Wir sehen z. B., daß wir mit 0,02 Hammelserum noch ein akut wirksames Gift erzielen, ja mit 0,001 noch deutliche Krankheitssymptome auslösen. Das sind Mengen, die nicht allzusehr hinter denen zurückbleiben, die bei der Auswertung der Anaphylaxie die Grenzdosen des Reinjektionsserums darstellen²⁾.

Nur in einem Punkt besteht eine scheinbare Abweichung, das ist der ungewöhnliche schnelle Verlauf der Anaphylaxie, während doch wenigstens bei der Verwendung kleiner Mengen von Antigen und Antikörper die Bildung des Giftes im Reagenzglas lange Zeit in Anspruch nimmt, und nur bei großen Mengen eine akute Giftbildung erfolgt. Wir müssen aber bedenken, daß im Reagenzglas nur eine beschränkte Menge des Komplements vorhanden ist, im Organismus des Tieres dagegen nicht nur dessen gesamter Komplementvorrat zur Verfügung steht, sondern auch fortwährend neues Komplement gebildet werden kann, so daß hier naturgemäß viel schneller die tödliche Dosis des Anaphylatoxins erreicht wird.

Nachtrag.

Neben den erwähnten objektiven Symptomen der Anaphylaxie haben neuerdings Auer und Lewis auf einen weiteren regelmäßigen Befund bei Anaphylaxie aufmerksam gemacht. Es

1) Auch der anatomische Befund ist der gleiche (s. Nachtrag).

2) Damit entfällt ein Einwand, den Braun auf Grund der vorläufigen Veröffentlichung Friedbergers in seinem ausgezeichneten Sammelreferat (Fol. serol., 1910) erhoben hatte.

ist das die vollkommene Blähung und Starrheit der Lungen bei den an der aktiven und passiven Anaphylaxie eingegangenen Meerschweinchen¹⁾. Dieses Symptom, das, wie wir auf Grund unserer zahlreichen Versuche bestätigen können, tatsächlich bei derartigen Tieren regelmäßig vorhanden ist, ist nun von Biedl nach seinen Angaben auf der diesjährigen Tagung für Mikrobiologie bei den von ihm mit Anaphylatoxin vergifteten Meerschweinchen niemals beobachtet worden. Er bestätigt zwar, mit nach den Angaben Friedbergers hergestelltem Anaphylatoxin akuten Tod der Tiere erzielt zu haben, doch erwiesen die Lungen nach seinen Angaben nach Eröffnung des Thorax sich als völlig kollabiert wie bei der gewöhnlichen Erstickung. Daraus folgert Biedl (bei der Konstanz der Lungenblähung, bei der aktiven und passiven Anaphylaxie, wäre das berechtigt gewesen), daß das Anaphylatoxin zwar ein akut tödliches Gift, aber nicht das bei der Anaphylaxievergiftung in Betracht kommende Gift sei.

Am Tage nach diesen Ausführungen Biedls waren wir in der Lage, 2 Tiere zu demonstrieren, die mit Anaphylatoxin vergiftet, akut eingegangen waren, und entgegen den Angaben Biedls nach der Injektion eine derart vollständige Starre und Blähung der Lungen zeigten, daß das Herz nach Eröffnung des Thorax noch zum größten Teil von den Lungen überlagert war.

Kraus, der Mitarbeiter Biedls, hat in der gleichen Sitzung die Identität dieses Lungenbefundes mit dem aner-

1) Bei der Anaphylaxie des Warmblüters steht scheinbar im Vordergrund die Einwirkung des Anaphylatoxins auf die Respiration. Während besonders beim Meerschweinchen auch nach dem Tode noch das Herz kräftige Pulsationen zeigt (Braun), ist es nun bemerkenswert, daß Friedberger und Mita bei aktiv präparierten Fröschen nach der Reinjektion neben Mattigkeit und einer ausgesprochenen Lähmung der Extremitäten im wesentlichen eine Verlangsamung der Herzfrequenz sahen. Das veranlaßte Friedberger und Mita, das Anaphylatoxin auch am isolierten Froschherz zu untersuchen. Hierbei ergab es sich, daß bei der Registrierung mit dem Straubschen Apparat regelmäßig eine ganz bedeutende Verlangsamung des Pulses, schließlich Herzstillstand eintrat. Inaktiviertes Meerschweinchen-serum ist nach Digerierung mit Präzipitat ohne Effekt.

Aehnlich wie Anaphylatoxin wirken Wittepepton und Seidenpepton das wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Abderhalden verdanken. Ueber diese Versuche wird demnächst ausführlich berichtet werden.

kannt, wie ihn die an aktiver und passiver Anaphylaxie eingegangenen Tiere darbieten. Wir hatten noch bald danach Gelegenheit, derartige Versuche im Gesundheitsamt zu demonstrieren, auch da war der Befund der gleiche.

Seitdem haben wir in unseren zahlreichen Versuchen über Anaphylatoxin auf die Lungenblähungen stets geachtet, und auch in keinem einzigen Falle sie vermißt, sofern der akute Tod mit Anaphylatoxin eintrat.

In der nebenstehenden Tabelle ist ein Teil der seither ausgeführten Versuche zusammengestellt, die teils wir, teils Friedberger in Gemeinschaft mit Jerusalem und mit Goldschmid ausgeführt haben.

Versuch No.	Antigen	Antikörper	Zugesetzte Kom- plementmenge (und Menge des injizierten Giftes)	Behandlung des Komple- mentabgusses („Anaphyla- toxin“)	Re- sultat tot in	Ob- duktions- befund 1)	
						Herz	Lunge
1	3,0 Hammelser.	4,0 Antihammelser. v. Kanin.	5,0 (3,0)	—	3'	+	+
2	2,0 dgl.	3,0 dgl.	4,0 (3,0)	—	3'	+	+
3	dgl.	dgl.	3,0 (3,0)	—	5'	+	+
4	"	"	" "	—	3'	+	+
5	"	"	" "	—	> 6 ^b	+	+
6	"	"	" "	—	> 6 ^b	+	+
7	3,0 Hammelblutschatt.	1,0 hämolyt. Ser.	3,0 (3,0)	—	4'	+	+
8	dgl.	dgl.	" "	—	> 10 ^b	+	+
9	1,0 Hammelblutkörper	1,0 hämolyt. Ser.	3,0 (3,0)	—	4'	+	+
10	dgl.	dgl.	" "	—	> 10 ^b	+	+
11	"	"	" "	—	3'	+	+
12	1,0 Hammelser.	2,0 Antihammelser. v. Kanin.	3,0 (4,0)	—	2'	+	+
13	dgl.	dgl.	" "	—	1'	+	+
14	"	"	" "	—	2'	+	+
15	"	"	(3,0)	—	12'	+	+
16	"	"	(4,0)	bei 37° getrocknet, wieder in 3,0 Wasser gelöst	2'	+	+
17	"	"	(6,0)	bei 37° getrocknet, wieder in 3,0 Wasser aufgenommen	1 1/2'	+	+
18	"	"	(4,0)	mit Aether extrahiert	1 1/2'	+	+
19	"	"	(9,0)	Entfern. d. Glob. d. Dialyse	25'	+	+
20	"	"	" "	dgl.	3	+	+

1) Herz +, Lunge + bedeutet: bei der sofort vorgenommenen Obduktion pulsiert das Herz noch, ist die Lunge stark gebläht und starr.

Versuch No.	Antigen	Antikörper	Zugesetzte Kom- plementmenge (und Menge des injizierten Giftes)	Behandlung des Komple- mentabgusses („Anaphyla- toxin“)	Re- sultat	Ob- duktions- befund	
						tot in	Herz Lunge
21	1/2 Kultur V. Metsch.	—	3,0 (4,0)	—	3'	+	+
22	dgl.	—	4,0 "	—	6'	+	+
23	"	1,0 Ka.-Immunser.	" "	—	41'	+	+
24	"	dgl.	" "	—	26'	+	+
25	1/2 Kultur Typhus	2,5 Pferdeantiser.	4,0 (4,0)	—	4'	+	+
26	dgl.	1,0 "	" "	—	2'	+	+
27	"	0,25 "	" "	—	1'	+	+
28	"	0,1 "	" "	—	22'	+	+
29	"	—	" "	—	4'	+	+
30	"	0,1 Pferdeantiser.	" "	—	4'	+	+
31	"	1,0 "	" "	—	8'	+	+
32	"	0,1 "	" "	—	4'	+	+
33	"	0,01 "	" "	—	11'	+	+
34	"	0,001 "	" "	—	2'	+	+
35	"	"	" "	—	5'	+	+
36	3 Oesen Typhus	—	4,0 (4,0)	—	4'	+	+
37	1/2 Oese "	—	" "	—	3'	+	+
38	" "	1,0 Pferdeantiser.	" "	—	5'	+	+
39	Tuberkelbac. hum.	0,1 Antis. (Höchst)	4,0 (4,0)	—	5'	+	+
40	dgl.	1,0 dgl.	" "	—	6'	+	+
41	"	0,01 "	" "	—	2'	+	+
42	"	0,001 "	" "	—	4'	+	+
43	Tuberkelbac. bovin.	0,1 "	" "	—	4'	+	+
44	1/2 Kultur Prodig.	—	4,0 (4,0)	—	3'	+	+
45	dgl.	—	" "	—	6'	+	+
46	"	—	" "	—	7'	+	+
47	"	—	" "	—	3'	+	+
48	"	—	" "	—	2'	+	+
49	1 Oese dgl.	—	4,0 (4,0)	—	3'	+	+
50	1/2 " "	—	" "	—	4'	+	+
24 ^a in Kontakt							

Aus dieser Tabelle ergibt sich also, daß bei allen 50 bis zum Abschluß dieser Arbeit an Anaphylatoxinvergiftung akut oder subakut eingegangenen Meerschweinchen¹⁾ das Auer-Lewissche Phänomen der Lungenblähung und Starre vor-

1) Auch weiterhin wurde in zahlreichen Versuchen das Phänomen von Auer-Lewis bei keinem einzigen an Anaphylaxievergiftung eingegangenen Tier vermißt.

handen war im gleichen Grade wie bei der aktiven und passiven Anaphylaxie. Dabei ist es ganz irrelevant, ob das Gift aus Präzipitaten oder beladenen Blutkörperchen resp. Schatten gewonnen ist, oder endlich auch aus Bakterien, die mit Immunambozeptor oder Normalambozeptor (Versuch No. 21, 22, 36, 37, 44—50) beladen und dann mit Komplement digeriert waren (Friedberger und Goldschmid). Zu diesen Versuchen sei noch ergänzend bemerkt, daß weder die Bodensätze akut giftig wirkten (beladene Bakterien), noch die lebenden Bakterien allein in den größten in den Versuchen verwandten Mengen intravenös eingespritzt. Daß es sich auch hier um die Abspaltung eines echten Anaphylatoxins handelt, ergibt sich mit Sicherheit daraus, daß inaktiviertes Meerschweinchenserum nach Kontakt mit den beladenen Bakterien nie akut giftig wirkte (ausführliche Veröffentlichung erfolgt in dieser Zeitschrift).

Wir vermögen uns den Widerspruch unserer Resultate mit denen von Biedl und Kraus bezüglich des Lungenbefundes nicht zu erklären. Kraus führte ihn darauf zurück, daß vielleicht ihr Gift weniger wirksam gewesen wäre. Das ist jedoch unwahrscheinlich, da die Autoren ja akuten Tod infolge der Injektion beobachtet hatten, während wir auch in Fällen Lungenblähungen sahen, in denen die Tiere erst ganz subakut der Vergiftung erlagen. Wir müssen also im Gegensatz zu Biedl und Kraus den Satz aufstellen, daß auch Anaphylatoxin in tödlichen Dosen **regelmäßig** den Tod mit Lungenblähung und Lungenstarre zur Folge hat. Damit scheint es uns auch im Sinne von Biedl und Kraus erwiesen zu sein, daß das bei der Anaphylatoxinvergiftung in Frage kommende Gift mit dem identisch ist, das bei der aktiven und passiven Anaphylaxie gebildet wird.

Auch der Erfahrenste vermag, worauf schon Friedberger in seiner vorigen Arbeit hingewiesen hat, das Symptombild der aktiven Anaphylaxie von der der Vergiftung mit Anaphylatoxin nicht zu unterscheiden. Die Symptome sind vollständig identisch und das gilt auch namentlich von der agonalen Erstickung. Es war deshalb von vornherein schon höchst

wunderbar, daß hier bei ganz identischem Symptomenkomplex ein so diametraler anatomischer Befund zugrunde liegen sollte.

Wir möchten freilich der Lungenblähung, die ja, wie Auer und Lewis hervorgehoben haben, ein regelmäßiger Befund ist, nicht die wesentliche Bedeutung beimessen, die ihr Biedl und Kraus in ihrem Vortrag zugeschrieben haben.

Auch die Injektion von toxisch wirkenden Normalseris, und auch die giftigen Antisera (Friedberger), wie das Doerr gezeigt hat und wir bestätigen können, ferner das Pepton (Biedl und Kraus), wie wir hinzufügen können auch das Gift von Vaughan und Wehler und auch Fermente (Friedberger und Gröber) rufen den gleichen Befund hervor. Hier handelt es sich allerdings um Substanzen, die zur Anaphylaxie bzw. zum Anaphylatoxin Beziehungen haben, doch ist es Doerr, wie ich einer brieflichen Mitteilung entnehme, auch gelungen, durch Saponin und selbst durch Oelsäure oleinsaures Natron und durch Chloroform, Gröber durch Morphin eine vollkommene Lungenblähung und Starre zu erzielen, die sich äußerlich in nichts von der bei der Anaphylaxie unterscheidet.

Offenbar bedingen beim Meerschweinchen die meisten Mittel, die schwere Respirationsstörung veranlassen, eine Blähung der Lunge.

Die Lungenblähung ist also zwar ein konstanter Befund bei der Anaphylaxie, aber keineswegs für sie allein charakteristisch.

Zusammenfassung des Nachtrags¹⁾.

Die Lungenblähung und Starre hat sich in über 50 Fällen als ein konstanter Befund bei der tödlichen Anaphylatoxinvergiftung des Meerschweinchens erwiesen.

Die Mittel zu den vorstehenden Untersuchungen wurden zum Teil einem Stipendium entnommen, das dem einen von uns (F.) aus der Adolph Salomonsohn-Stiftung verliehen worden ist.

1) Zusammenfassung der übrigen Resultate s. p. 151.

Nachdruck verboten.

[Aus der Kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Neunkirchen.]

Ueber sterilisierende Wirkung des Chloroforms im Tierkörper.

(Ein Beitrag zur kausalen Therapie bei akuter
und chronischer Typhusinfektion.)

Von Prof. **H. Conradi.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Mai 1910.)

Der Typhusprozeß des Menschen wird von Bakterien eingeleitet und unterhalten, die außerhalb des Körpers durch chemische Mittel leicht und rasch zerstörbar sind. Dennoch gehört die innere Desinfektion bei Typhus zu den schwierigsten Aufgaben der Chemotherapie. Alle bisherigen Versuche, die bakteriogenen Infektionskrankheiten durch interne Desinfizienten zu heilen, sind gescheitert. Allein diese Mißerfolge beweisen noch nicht die Aussichtslosigkeit unseres Zieles, auch bei bakteriellen Infektionen durch Sterilisierung wirkende Heilmittel aufzufinden. Nur eine kausale Therapie beseitigt Krankheitssymptome und Krankheitserreger, sie kupiert die infektiöse Erkrankung und verhütet ihre Kontagiosität.

Die nachstehenden Tierexperimente stellen den ersten Versuch dar, bei der Gruppe der Narcotica und insbesondere dem Chloroform die Wirkungsstärke der intravitalen Desinfektion gegenüber pathogenen Bakterien festzustellen. Zugrunde lag die Vorstellung, daß bestimmte, lipoidlösliche Narcotica zur inneren Desinfektion sich in besonderem Maße eignen, weil sie vermöge ihrer Lösungsaffinität zu den Zelllipoiden innerhalb kürzester Zeit sowohl die Bakterien wie die Körperzellen durchdringen. So war von vornherein die Möglichkeit gegeben, auch die intracellulären Krankheitskeime im Organismus abzutöten. Einen weiteren Vorteil versprach die Flüchtigkeit der angewandten Substanzen, die ihre Resorption und Wiederausscheidung beschleunigte.

Eine desinfizierende Wirkung des Chloroforms *in vitro* stand bereits durch die Untersuchungen von Müntz¹⁾, De la Croix²⁾, Salkowski³⁾, M. Kirchner⁴⁾, Lossen⁵⁾ u. a. fest. Schon $\frac{1}{2}$ —1-proz. wässrige Chloroformlösungen töten innerhalb kurzer Zeit die vegetativen Formen der gewöhnlichen Saprophyten. Ferner gehen sporenlose Milzbrandkeime, Typhusbacillen, Staphylokokken sowie Choleravibrionen in Chloroformwasser schnell zugrunde. Ueber die Desinfektionskraft des Chloroforms im Organismus aber lag nur ein Versuch von Salkowski (Virch. Archiv, a. a. O.) vor, der bei einem Hunde nach 4 Tage langer Verabreichung von je 200 ccm Chloroformwasser eine gewisse Abnahme der normalen Darmbakterien beobachtete. Sonstige Angaben über die Desinfektionswirkung des Chloroforms im Tierkörper waren nicht erhältlich.

Unsere nächste Aufgabe bestand darin, zu prüfen, ob der Ablauf der experimentellen Typhusinfektion durch Chloroform beeinflusst werden kann. Als Versuchstiere dienten Kaninchen, die intravenös mit beträchtlichen Mengen von Typhusbacillen infiziert wurden. Um die Einwirkung des Chloroforms auf die akute Typhusinfektion zu studieren, fand in der Mehrzahl der Versuche die Behandlung der Kaninchen ein oder mehrere Tage nach erfolgter Typhusinfektion statt. Eine zweite Versuchsserie hingegen sollte über die Heilungsmöglichkeiten der chronischen Typhusinfektion Klarheit schaffen, und zu diesen chemotherapeutischen Versuchen bei Bacillenträgern verwandten wir Kaninchen, die 25 Tage zuvor mit Typhusbacillen infiziert waren.

Die innerliche Darreichung des Chloroforms stößt auf Schwierigkeiten. Für unsere Zwecke kam die Inhalation dieses flüchtigen Mittels zunächst nicht in Betracht, weil eine

1) Zitiert nach M. Kirchner, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 8, 1890, p. 467.

2) Ebenda.

3) Deutsche med. Wochenschr., 1888, No. 16; ferner Virchows Arch., Bd. 115, 1889, p. 339.

4) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 8, 1890, p. 465.

5) Lossen, Beiträge zur Kenntnis der desinfizierenden Wirkung des Chloroforms namentlich im gasförmigen Zustand. Inaug.-Diss. Heidelberg, 1899.

exakte Dosierung der in den Kreislauf gelangenden Giftmengen kaum erreichbar ist. Ganz ungeeignet erscheint die interne Anwendung des Chloroformwassers, weil hier das Chloroform 1:200 verdünnt, mithin eine therapeutisch wirksame Konzentration im Blute nicht erzielt wird. Auch die von Burkhardt¹⁾ versuchte intravenöse Einspritzung von Chloroformwasser empfiehlt sich nicht mehr, nachdem Küttner²⁾ Thrombosen an der Infusionsstelle auftreten sah. Ferner verbietet sich die subkutane Injektion von Chloroform wegen ihrer Schmerzhaftigkeit, der leicht sich einstellenden Abszeßbildung und der unvollkommenen Resorption des Chloroforms vom Unterhautzellgewebe aus. Ich versuchte nun durch Einführung von Chloroformöl oder Chloroformmilch in das Rectum eine Desinfektion des Gesamtorganismus herbeizuführen. Bei dieser rectalen Applikationsweise gelangt das Chloroform sehr allmählich in den Kreislauf und verteilt sich nach und nach innerhalb der Gewebe. Eine plötzliche übermäßige Zufuhr von Chloroform, ein rapider Anstieg der Giftkonzentration im Blute wird daher vermieden. Allein die Beigabe von Olivenöl oder Milch verlangsamt nicht nur die Resorptionsgeschwindigkeit des Chloroforms, sondern diese einhüllenden Stoffe schützen auch die Darmschleimhaut vor der nekrotisierenden Giftwirkung des Chloroforms.

Es kam nun darauf an, festzustellen, ob durch rectale Zufuhr von Chloroformöl oder Chloroformmilch bei dem typhusinfizierten Kaninchen eine Sterilisierung des Gesamtorganismus bewirkt wird. Zur intravenösen Infektion der Kaninchen verwandte ich einen aus dem Blute eines Typhuskranken frisch isolierten virulenten Typhusstamm, und zwar bei allen Versuchen folgende Infektionsdosis: von einer 20-stündigen Typhusagarkultur je eine Normalöse pro Kilo Körpergewicht. Bei strikter Einhaltung dieser subletalen Infektionsdosis war der Infektionsverlauf überaus regelmäßig. Unter den gewählten Versuchsbedingungen wiesen die intravenös infizierten Kaninchen Typhusbacillen mindestens 10 Tage lang konstant in Leber, Galle, Herzblut und Knochenmark

1) Münch. med. Wochenschr., 1909, p. 1678 und 2365.

2) Centralbl. f. Chir., 1910, No. 7, p. 234.

auf, häufig auch in Niere, Milz und Harn. Jenseits der zweiten Woche nach der Infektion aber wurden die Befunde von Typhusbacillen in den Organen unbeständig, nur die Blasengalle enthielt dann stets noch Typhuskeime. Da somit innerhalb der ersten 10 Tage nach der Infektion mit absoluter Konstanz in bestimmten Organen der Versuchstiere Typhusbacillen fortwucherten, konnte eine etwaige sterilisierende Wirkung des Chloroforms im Tierkörper durch das Experiment dargetan werden.

Die ersten chemotherapeutischen Versuche an typhusinfizierten Kaninchen wurden mit Chloroformöl vorgenommen, und zwar 1 Volumteil Chloroform auf 4 Volumteile Olivenöl. Allein es stellte sich bald heraus, daß größere Mengen Olivenöl an sich den Kaninchendarm stark reizten, Hämorrhagieen in der Schleimhaut des Mastdarms sowie fibrinöse exsudative Entzündung des Bauchfells hervorriefen. Daher mußte von einer weiteren Verwendung des Chloroformöls im Tierversuch Abstand genommen werden. Statt dessen ward nunmehr das Chloroform in einem Gemenge von Milch und Rahm gelöst, und zwar: 5 Volumteile Milch, 4 Volumteile Rahm, und 1 Volumteil Chloroform Anschütz. Diese jedesmal frisch bereitete und tüchtig durchgeschüttelte Chloroformmilch diente zu sämtlichen fernerer Versuchen. Mittels eines weichen Nélaton-Katheters und einer 10 ccm fassenden Pravaz-Spritze ward die benötigte Chloroformmilch den in Bauchlage auf einem Operationsbrett befestigten Kaninchen in den Mastdarm langsam infundiert.

Die Dosis toxica des Chloroforms schwankte individuell¹⁾. Manche Kaninchen vertrugen eine einmalige rectal verabreichte Chloroformmenge von 1—5 ccm, einige wenige allerdings gingen schon nach rectaler Einspritzung von 0,25 ccm Chloroform innerhalb 1—2 Tagen zugrunde. Im allgemeinen erwies sich eine in den Mastdarm des Kaninchens

1) Das Chloroform ist für unsere Versuchstiere (Mäuse, Katzen, Kaninchen) giftiger als für den Menschen. Es ist daher Ostertag (Virchows Archiv, 1889, Bd. 118, p. 250) darin beizupflichten, daß das Chloroform niemals seinen Siegeszug durch die Welt angetreten hätte, wenn nicht hier der Versuch am Menschen dem Versuch am Tier vorausgegangen wäre.

infundierte Gabe von 0,5 ccm Chloroform + 4,5 ccm Rahmmilch bei tagelanger Verabreichung als unschädlich. Diese Dosis therapeutica wurde daher durchgehend für die weiteren Versuche verwandt. In der Regel reichte die Chloroformmenge von 0,5 ccm hin, um vom Mastdarm aus bei den Kaninchen ca. $\frac{1}{2}$ Stunde nach dem Einlauf der Chloroformmilch eine leichte und schnell vorübergehende Narkose auszulösen. Die Behandlung der typhusinfizierten Kaninchen mit 0,5 ccm Chloroform Anschütz + 4,5 ccm Rahmmilch fand Tag für Tag kürzere oder längere Zeit hindurch statt. Jede Versuchsserie ward so angelegt, daß gleichzeitig eine ganze Reihe Kaninchen mit der gewählten Typhusdosis (1 Normalöse einer 20-stündigen Agarkultur pro Kilo Versuchstier) intravenös injiziert wurden. Ein Teil der Kaninchen wurde mit Chloroform behandelt, der andere Teil der Versuchstiere blieb unbehandelt und diente zur Kontrolle. Ein oder mehrere Tage nach der Chloroformdarreichung wurden alsdann die Versuchstiere — und gleichzeitig auch die Kontrollkaninchen — getötet und ihre Organe auf Typhusbacillen hin sorgfältig untersucht. Die Resultate der Chloroformbehandlung bei frisch mit Typhusbacillen infizierten Kaninchen sind in Tabelle I, die zur Kontrolle dienenden Befunde bei den unbehandelten, typhusinfizierten Kaninchen in Tabelle II zusammengestellt. Noch sei bemerkt, daß die während der Behandlung eingegangenen Kaninchen (unter 26 insgesamt 5 Versuchstiere) in die nachstehenden Tabellen nicht aufgenommen sind.

Tabelle I.

Die rectale Behandlung typhusinfizierter Kaninchen mit Chloroformmilch innerhalb der ersten Infektionstage.

No.	Gewicht g	Tag der Typhus- infektion	Tägliche Be- handlung mit je 0,5 ccm Chloroform am	Zeit- punkt der Tötung	Typhus- bacillen- befund in den Organen	Besondere Be- merkungen
1	2000	11. I. 10	12. I.	13. I.	positiv	
2	2020	13. I.	14. I. 15. I.	16. I.	positiv	
3	2570	16. I.	17. I. 18. I.	19. I.	negativ	

Tabelle I (Fortsetzung).

No.	Gewicht g	Tag der Typhus- infektion	Tägliche Be- handlung mit je 0,5 cem Chloroform am	Zeit- punkt der Tötung	Typhus- bacillen- befund in den Organen	Besondere Be- merkungen
4	1760	16. I. 10	17. I.	19. I.	negativ	
5	2520	20. I.	18. I.	24. I.	positiv	
6	2280	20. I.	22. I.	25. I.	negativ	
7	2570	20. I.	23. I.	24. I.	negativ	
8	1785	20. I.	22. I.	24. I.	positiv	Galle positiv, alle Organe negativ
9	1820	21. I.	23. I.	28. I.	negativ	
10	2150	21. I.	24. I.	29. I.	negativ	
11	2469	21. I.	25. I.	4. II.	negativ	
			26. I.			
			27. I.			
			28. I.			
			29. I.			
			30. I.			
			31. I.			
12	2360	21. I.	1. II.	5. II.	negativ	
			2. II.			
			24. I.			
			25. I.			
			26. I.			
			27. I.			
			28. I.			
			29. I.			
			30. I.			
			31. I.			
			1. II.			
			2. II.			
			3. II.			
			4. II.			

11 *

Tabelle I (Fortsetzung).

No.	Gewicht g	Tag der Typhus- infektion	Tägliche Be- handlung mit je 0,5 ccm Chloroform am	Zeit- punkt der Tötung	Typhus- bacillen- befund in den Organen	Besondere Be- merkungen
13	1780	21. I.	24. I. 25. I. 26. I. 27. I. 28. I.	29. I.	negativ	vereinzelte Typhus- bacillen in Nierenrinde
14	3020	21. I.	24. I. 25. I. 26. I. 27. I.	28. I.	positiv	
15	2075	25. I.	27. I. 28. I. 29. I. 30. I. 31. I.	2. II.	negativ	
16	2200	25. I.	28. I. 29. I. 30. I. 31. I.	3. II.	negativ	
17	1680	25. I.	30. I. 31. I. 1. II. 2. II. 3. II. 4. II.	5. II.	negativ	
18	1930	1. II.	3. II. 4. II. 5. II. 6. II. 7. II. 8. II.	10. II.	negativ	
19	2420	1. II.	4. II. 5. II. 6. II. 7. II. 8. II.	10. II.	negativ	
20	2570	5. II.	7. II. 8. II. 9. II. 10. II. 11. II. 12. II. 13. II. 14. II.	16. II.	negativ	
21	1715	5. II.	7. II. 8. II. 9. II. 10. II. 11. II. 12. II.	14. II.	negativ	

Tabelle II.
Kulturelle Organbefunde bei typhusinfizierten Kaninchen
(Kontrollversuche).

No.	Gewicht g	Tag der Typhus- infektion	Zeitpunkt der Tötung	Typhus- bacillenbe- fund in den Organen	Besondere Be- merkungen
1	1900	11. I.	13. I.	positiv	
2	2450	13. I.	16. I.	"	
3	2165	16. I.	19. I.	"	
4	1830	20. I.	28. I.	"	
5	2440	20. I.	24. I.	"	
6	2110	21. I.	4. II.	"	
7	2516	21. I.	4. II.	"	
8	1475	25. I.	5. II.	"	
9	2080	25. I.	5. II.	"	
10	2335	1. II.	10. II.	"	
11	1590	5. II.	16. II.	"	
12	2268	5. II.	16. II.	"	

Die vorausgegangenen Tabellen I und II erbringen den Nachweis, daß typhusinfizierte Kaninchen durch tägliche rectale Verabreichung von 0,5 ccm Chloroform + 4,5 ccm eines Milch- und Rahm- gemenges von den Typhusbacillen vollkommen befreit wurden. Ein Vergleich der Tabelle I mit Tabelle II läßt mit aller Deutlichkeit die sterilisierende Wirkung der internen Chloroformbehandlung erkennen. Während sämtliche 12 unbehandelte Kaninchen vom 2.—14. Tage nach erfolgter Infektion die spezifischen Krankheitskeime in ihren Organen aufweisen, sind bei den mit Chloroform behandelten typhusinfizierten Kaninchen innerhalb des gleichen Zeitraums von 21 Versuchstieren 16 frei von Typhusbacillen befunden worden. Werden gar nur die mindestens 5mal mit Chloroform behandelten Versuchstiere berücksichtigt, so ist festzustellen, daß bei sämtlichen Versuchstieren die Infektion durch die interne Chloroformtherapie zum Erlöschen gebracht wurde. Das Chloroform ist somit ein Mittel, das die akute Typhusinfektion des Kaninchens radikal beseitigt.

Noch mußte geprüft werden, ob auch die chronische Typhusinfektion des Kaninchens durch die Chloroformtherapie beeinflußt wird. Die Ausführung dieser Ver-

suche gestaltete sich folgendermaßen. Acht Kaninchen wurden in der bereits erörterten Weise mit Typhusbacillen intravenös infiziert. Nach 24 Tagen wurde jedes infizierte Kaninchen laparotomiert, mit besonders feiner Kanüle eine Punktion der Gallenblase vorgenommen und die Bauchhöhle wieder geschlossen. Einige Tropfen der Galle wurden hierauf auf Lackmus-Milchzucker-Agarplatten ausgestrichen: bei sämtlichen Versuchstieren ließen sich 24 Tage nach der Infektion Typhusbacillen in der Blasengalle nachweisen¹⁾. Einen Tag nach der Probepunktion wurden von den typhusinfizierten Kaninchen fünf der Chloroformbehandlung unterzogen, während drei, die Kontrolltiere, unbehandelt blieben. Nach Abschluß der Behandlung töteten wir die behandelten -- und gleichzeitig auch die unbehandelten -- Versuchstiere und prüften jedes Organ auf Anwesenheit von Typhusbacillen. Die weiteren Einzelheiten sind aus Tabelle III (p. 167) ersichtlich.

Aus Tabelle III geht die Tatsache hervor, daß auch die experimentelle, chronische Typhusinfektion des Kaninchens durch die interne Chloroformtherapie geheilt werden kann. Es darf vermutet werden, daß in den mitgeteilten Versuchen die Lösungsaffinität des Chloroforms zu den Lipoiden der Galle die schwierige Desinfektion der Gallenwege und Gallenblase ermöglicht hat. Das Chloroform übt demnach eine bilotrope Wirkung aus, es dringt in die schwer zugänglichen Herde der chronischen Typhusinfektion ein und zerstört die parasitäre Existenz der in der Galle persistierenden Typhuskeime. Die Heilungsmöglichkeit der Typhusbacillenträger ist somit durch den Tierversuch erwiesen.

Die vorliegenden Untersuchungen werden über das theoretische Interesse hinaus auch praktische Bedeutung erlangen, wenn sich aus den Tierversuchen ein Verfahren zur Heilung der akuten und chronischen Typhusinfektion des Menschen ergeben sollte. Vor allem muß noch für den Menschen die

1) Auf dieses Fortwuchern der Typhusbacillen in der Gallenblase von Kaninchen nach intravenöser Injektion haben zuerst Blachstein (Johns Hopkins Hospital Bulletin, 1891, Bd. 2, p. 96), W. H. Welch (ebenda, p. 121) sowie Doerr (Centralbl. f. Bakteriöl., 1905, Bd. 39, p. 624) die Aufmerksamkeit hingelenkt.

Tabelle III.

Die rectale Behandlung typhusinfizierter Kaninchen mit Chloroformöl 24 Tage nach der Infektion.

No.	Ge- wicht g	Tag der Typhus- infektion	Tag der Probe- punktion der Gal- lenblase	Tägliche Be- handlung mit je 0,5 ccm Chloroform am	Tag der Tötung	Typhusbacillenbefund in den Organen
1	1835	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II.	21. II.	negativ
2	2316	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II. 20. II.	21. II.	negativ
3	2580	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II. 20. II.	21. II.	negativ
4	2800	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II. 20. II. 21. II.	22. II.	negativ
5	1715	21. I.	14. II.	15. II. 16. II. 17. II. 18. II. 19. II.	22. II.	negativ
6	2760	21. I.	14. II.	unbehandelt	21. II.	positiv { Galle Leber Knochenmark
7	1690	21. I.	14. II.	„	21. II.	positiv (Galle)
8	2016	21. I.	14. II.	„	22. II.	„ „

Dosis therapeutica des Chloroforms und seine zweckmäßigste Applikation ermittelt werden.

Gegenwärtig zählt die interne Chloroformtherapie wenig Anhänger [vgl. Schmiedeberg¹⁾]. Allein es kann nicht zweifelhaft sein, daß die bisherige irrationelle Anwendungs-

1) O. Schmiedeberg, Grundriß der Pharmakologie, Leipzig 1906, p. 64.

weise die interne Chloroformbehandlung in Mißkredit gebracht hat¹⁾. Ferner führten irrig, aus den Tierversuchen hergeleitete Analogieschlüsse zur Ueberschätzung der Toxizität für den Menschen. Für die therapeutische Anwendung des Chloroforms bei dem Menschen sind meines Erachtens schon jetzt drei Wege gangbar. Erstens ist es nach meinen bisherigen Erfahrungen möglich, bei dem Menschen Chloroformöl (Chloroform, Olivenöl ana) in bestimmter Menge ohne Schädigung des Magendarmtraktes innerlich zu verabreichen. Wie schon die tägliche Erfahrung mit Oelklystieren lehrt, bewirkt das Olivenöl bei dem Menschen keine Entzündung der Darmschleimhaut, wie im Tierversuch. Es wäre daher zu versuchen, Geloduratkapseln, die mit 0,5 ccm Chloroform Anschutz + 0,5 ccm Olivenöl gefüllt sind, innerlich an Typhuskranken und Typhusbacillenträger zu verabreichen²⁾. Zweitens besteht noch die Möglichkeit, beim Menschen größere Mengen Chloroformöl (15 ccm Chloroform + 15 ccm Olivenöl) in den Mastdarm einzubringen. Denn das Oel hebt jede lokale nekrotisierende Giftwirkung des Chloroforms völlig auf. Ferner wird durch Lösung des Chloroforms in Oel die Resorptionsgeschwindigkeit des rectal eingespritzten Desinficiens verlangsamt, so daß ein plötzlicher Anstieg der Giftkonzentration im Blute und eine hierdurch entstehende Lebensgefahr unter keinen Umständen eintritt. Vielmehr erfolgt vom Mastdarm aus die Resorption des Chloroformöls so zögernd, daß der zur Narkose erforderliche Chloroformgehalt

1) Hierher gehört z. B. die von Stepp (Münch. med. Wochenschr., 1889, p. 128) auf Anregung Salkowskis versuchte Chloroformwassertherapie. Ebenso auch die von Schleich (Die Therapie der Gegenwart, 1909, p. 138) angegebene interne Behandlung mit einem Chloroformpulver, dem Desalgin. Der Autor erwartet von der Tagesdosis 0,24 g Chloroform desinfizierende Wirkungen.

2) Die Auflösung der Neunkircher Anstalt am 1. April d. J. setzte meinen therapeutischen Versuchen am Menschen ein vorzeitiges Ende. Bisher wurde in der Kreisirrenanstalt Klingenmünster (Pfalz) die interne Chloroformtherapie bei einer chronischen Typhusbacillenträgerin in folgender Weise angewandt. Die Kranke erhielt vom 5. April bis 30. Juni mit kurzen Unterbrechungen täglich 3 Geloduratkapseln (0,5 Chloroform + 0,5 Olivenöl), dennoch dauert die Ausscheidung von Typhusbacillen fort. Die für den Menschen wirksame therapeutische Dosis zu bestimmen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

des Blutes wohl nicht erzielt wird. Als dritter Weg endlich steht die vorsichtige Anwendung der Inhalationsnarkose offen, um bei Typhuskranken und Typhusbacillenträgern die sterilisierende Wirkung des Chloroforms gegenüber Typhusbacillen zur Geltung zu bringen. Ob die Chloroformtherapie mit der Verwendung kleiner und häufiger Dosen mehr erreicht als durch einmalige Zufuhr einer großen Chloroformmenge, müssen weitere Untersuchungen lehren. Die Heilungsmöglichkeit der akuten und chronischen Typhusinfektion geht aus den mitgeteilten Tierversuchen hervor. Wir wissen jetzt, daß das Chloroform im Tierkörper eine sterilisierende Wirkung gegenüber Typhusbacillen ausübt. Ob indes das Chloroform auch für den Menschen ein durch Sterilisierung wirkendes Heilmittel darstellt, entscheidet die klinische Erfahrung.

Zusammenfassung.

- 1) Chloroform ist ein flüchtiges, lipoidlösliches Desinfektionsmittel, das auch im Organismus sterilisierende Wirkungen entfaltet.
- 2) Chloroform heilt die akute experimentelle Typhusinfektion des Kaninchens.
- 3) Auch die chronische, experimentelle Typhusinfektion des Kaninchens wird durch Chloroform restlos beseitigt, indem die in den Gallenwegen und der Gallenblase persistierenden Typhuskeime abgetötet werden.
- 4) Unter den gewählten Versuchsbedingungen reicht die fünftägige, rectale Zufuhr von je 0,5 ccm Chloroform + 2,5 ccm Milch + 2 ccm Rahm hin, um die bereits erfolgte Typhusinfektion des Kaninchens im Keime zu ersticken.
- 5) Es bleibt noch festzustellen, ob bei dem typhusinfizierten Menschen Darreichung von Chloroformöl-Geloduratkapseln oder Chloroformöleingießung in den Mastdarm oder Chloroforminhalation Heilwirkungen zustande bringt.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. Dr. H. Sachs)
des Königl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Sublimat und Wassermannsche Reaktion.

Von Dr. **H. Ritz**,
Assistent am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Mai 1910.)

Das Studium der Wirkung des Sublimats auf die roten Blutkörperchen, dessen hämolytische Funktion seit den Untersuchungen Ehrlichs¹⁾ bekannt ist, beansprucht in neuerer Zeit ein erhöhtes Interesse. Um die Frage zu entscheiden, ob das Verschwinden der Wassermannschen Reaktion im Verlauf einer spezifischen Quecksilberbehandlung als Folge einer spezifischen Einwirkung auf den syphilitischen Prozeß aufzufassen ist oder etwa durch eine direkte Einwirkung von Quecksilbersalzen auf den Mechanismus der Reaktion bedingt wird, sind von verschiedenen Seiten Untersuchungen vorgenommen worden, in denen die Wirkung des Quecksilbers auf die Wassermannsche Reaktion im Reagenzglas festgestellt werden sollte, und in denen gerade das Sublimat, das bei derartigen Reagenzglasversuchen durch seine hämolytische Wirkung die Beurteilung naturgemäß erschweren muß, als Quecksilbersalz diene. So haben Epstein und Příbram^{2) 3)}, Satta und Donati⁴⁾ übereinstimmend angegeben, daß der Zusatz an sich nicht lösender Sublimatmengen imstande sei, eine positive Reaktion in eine negative umzuwandeln, und sie schlossen daraus, daß in der Tat die Komplementbindung durch Zusatz nicht lösender Sublimatmengen aufgehoben werden kann.

Leider vermißt man bei den Arbeiten ein näheres Eingehen auf die Eigenarten der durch Sublimat bedingten

1) P. Ehrlich, Charité-Annalen, Bd. 10, 1885.

2) E. Epstein und E. Příbram, Zeitschr. f. experim. Pathol. und Ther., Bd. 7, 1909, Heft 2.

3) Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 5.

4) Satta und Donati, Münchn. med. Wochenschr., 1910, No. 11.

Hämolyse. Bereits Sachs¹⁾ konnte zeigen, daß die hämolytische Wirkung des Sublimats durch Zusatz von Lipoiden (Lecithin) eine sehr erhebliche Beschleunigung erfährt und sogar in geringem Grade verstärkt werden kann, eine Tatsache, die trotz gegenteiliger Angaben von Detre und Sellei²⁾ erst kürzlich von Dohi³⁾ bestätigt werden konnte. Naturgemäß können daher durch den bei der Wassermannschen Reaktion erforderlichen Zusatz von lipoidhaltigem Organextrakt die Bedingungen der Sublimathämolyse verschoben werden, und es ist nicht angängig, den Anteil des Sublimats an der in einem Gemisch der zur Wassermannschen Reaktion erforderlichen Komponenten mit Sublimat eintretenden Hämolyse dadurch zu kontrollieren, daß man die entsprechende Sublimatmenge allein oder bei Zusatz von Serum auf hämolytische Wirkung prüft, wie dies in den Arbeiten von Epstein und Přibram geschehen ist. In der Tat kann dann in der Kontrolle die Hämolyse ausbleiben, während im eigentlichen Versuch das Sublimat durch den Zusatz des Organextraktes noch zur hämolytischen Wirkung gelangt, und man ist daher nicht in der Lage, aus derartigen Versuchen einen Schluß auf die Aufhebung der Komplementbindung durch Sublimat zu ziehen. Dazu kommt noch, daß in einigen der erwähnten Arbeiten die Beurteilung des Versuchsergebnisses bereits nach relativ kurzer Zeit ($1\frac{1}{2}$ —2 Stunden) erfolgte. Nun kommt der Sublimathämolyse, besonders wenn es sich um kleinere Dosen handelt, eine sehr lange Inkubationszeit zu, und wie wir seit den Untersuchungen von Dohi wissen, variiert dieselbe bei den verschiedenen Blutarten in sehr breiten Grenzen. Gerade das Hammelblut, das ja für die Wassermannsche Reaktion in der Regel herangezogen wird, bedingt eine besonders lange Inkubationszeit, bevor es durch das Sublimat sinnfällig angegriffen wird.

Aus den genannten Gründen erschien es geboten, mit der Nachprüfung der erwähnten, ein erhebliches theoretisches und praktisches Interesse beanspruchenden Angaben der Autoren

1) H. Sachs, Wiener klin. Wochenschr., 1905, No. 35.

2) Detre und Sellei, Berl. klin. Wochenschr., 1904, No. 30; Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 45 u. 46.

3) Dohi, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap., Bd. 5, 1909, Heft 3.

eine erneute Analyse der durch Sublimat bedingten hämolytischen Wirkung vorzunehmen unter besonderer Berücksichtigung der für die Wassermannsche Reaktion in Betracht kommenden Agentien.

Allgemeine Methodik.

Als Blutmenge diente in meinen Versuchen in der Regel 0,25 ccm einer 7—8-proz. Hammelblutaufschwemmung. Entsprechend den bei Anstellen der Wassermannschen Reaktion üblichen Versuchsbedingungen betrug das Gesamtvolumen 1,25 ccm. Bei Ausführung der Wassermannschen Reaktion waren die in der ersten Phase zusammenwirkenden Komponenten in einem Volumen von 0,75 ccm enthalten, während die durch den Zusatz von Blut und Ambozeptor hinzukommende Flüssigkeitsmenge 0,5 ccm betrug. Als Komplement diente stets frisch gewonnenes Meer-schweinchenserum, als Ambozeptor das inaktivierte Serum mit Hammelblut vorbehandelter Kaninchen.

I. Ueber die hämolytische Wirkung des Sublimats.

Die hämolytische Wirkung des Sublimats auf die Hammelblutkörperchen kann in zweierlei Weise durch die im Gemisch der Wassermannschen Reaktion vorhandenen Stoffe beeinflusst werden. Die verschiedenen Sera, die zur Anstellung der Reaktion verwandt werden, üben eine schützende Wirkung aus, d. h. sie vermindern die hämolytische Kraft des Sublimats dadurch, daß ein Teil desselben an die Eiweißstoffe der Sera gebunden und so der Einwirkung auf die Blutzellen entzogen wird. In den stärkeren Konzentrationen, bei denen die Hämolyse infolge der zellhärtenden Eigenschaften des Sublimats ausbleibt, interferiert, wie Sachs¹⁾ zeigen konnte, ein Serumzusatz dadurch, daß zwar auch Sublimat den Blutzellen entzogen wird, hier aber durch die Verminderung der auf die Zellen entfallenden Sublimatmenge Hämolyse statt Zellhärtung eintritt. Es verschiebt sich also sowohl die untere als die obere Lösungsgrenze des Sublimats durch den Zusatz von Serumbestandteilen.

Von weit größerer Bedeutung als die schon lange bekannte Schutzwirkung durch das Serum ist der Einfluß der zweiten Komponente, des Organextraktes, auf die Sublimathämolyse. Die von Sachs gefundene Tatsache, daß Lipotide eine Be-

1) H. Sachs, Münchn. med. Wochenschr., 1902, No. 5.

beschleunigung der Hämolyse durch Sublimat verursachen, bestätigte sich nämlich, wie man von vornherein erwarten durfte, auch bei Zusatz von Organextrakt. Er übt in der Tat eine stark beschleunigende Wirkung aus und verkürzt die Inkubationszeit der Sublimathämolyse. Diese beschleunigende Wirkung konnte ich sowohl bei Verwendung alkoholischer Organextrakte, wie auch bei Benutzung einer wässerigen Lipoidaufschwemmung¹⁾ feststellen. Da aber der alkoholische Extrakt in größeren Mengen eine nicht unerheblich stärkere Wirkung auszuüben schien, wurde auch die Einwirkung des Alkohols an und für sich einer Analyse unterzogen, und es zeigte sich, daß bereits Alkohol allein wirklich die Sublimathämolyse zu beschleunigen befähigt ist.

Zur Demonstration der beschleunigenden Wirkung des Alkohols einerseits, eines alkoholischen Extraktes andererseits möge folgendes Versuchsbeispiel dienen.

Es wurden 8 Reihen von absteigenden Mengen Sublimat und je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung ohne und mit Zusatz verschiedener Mengen von Alkohol oder alkoholischem Organextrakt (Gesamtvol. 1,25 ccm) 2 Stunden lang bei 37° digeriert und sodann im Eisschrank aufbewahrt. Die zugesetzten Alkohol- resp. Extraktmengen, sowie der nach 1, 2 und 20 Stunden notierte Grad der eingetretenen Hämolyse ist aus Tabelle 1 (p. 174) ersichtlich.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß nicht nur der Zusatz des Organextraktes, was nach den Untersuchungen von Sachs zu erwarten war, sondern auch bereits Alkohol an und für sich die Sublimathämolyse sehr erheblich beschleunigt. Ein Blick auf die Zahlen der Tabelle genügt, um die Interferenz etwaiger Additionswirkungen hierbei ausschließen zu lassen. Größere Mengen von Alkohol scheinen sogar die Sublimatwirkung nicht nur zu beschleunigen, sondern auch zu verstärken. Indessen ist andererseits deutlich ersichtlich, daß die beschleunigende Kraft der Organextrakte nicht etwa allein vom Alkoholgehalt abhängt, daß vielmehr die Lipoide als solche auch

1) Als „wässriger Extrakt“ diente hierfür die auf Veranlassung von F. Lesser (Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 21) in den Handel gebrachte wässrige Emulsion der durch Aetherextraktion von Menschenherzen gewonnenen Bestandteile.

Tabelle I.

[illegible]

Zeichenklärung: Grad der Hämolysse k = komplett, fk = fast komplett, st = stark, m = mäßig, w = wenig, Sp = Spur, Spch = Spürchen.

ihrerseits wirksam sind, wie sich dies auch aus dem schon erwähnten beschleunigenden Einfluß der von Lesser dargestellten wässerigen Lipoidaufschwemmung ergibt.

Die beschleunigende Wirkung des alkoholischen Organextraktes ist nicht nur bei Benutzung der erst nach langer Inkubation der Sublimatwirkung unterliegenden Blutarten wahrzunehmen, sondern auch bei solchen Blutartarten, die relativ rasch durch Sublimat gelöst werden, und als deren Prototyp ich das Kaninchenblut gewählt habe. Wenn auch größere Sublimatdosen das Kaninchenblut weit rascher lösen als das Hammelblut, so ist doch bei geringen Mengen die ausgedehnte Inkubationszeit der Sublimathämolyse deutlich wahrnehmbar. Aber auch hier tritt der beschleunigende Einfluß des Organextraktes sehr markant hervor. Ein Beispiel dieser Art zeigt Tabelle II, in welcher die Anordnung den Verhältnissen in Tabelle I entspricht.

Tabelle II.

Menge in 1 % Sublimat- lösung ccm	Hämolyse von Kaninchenblut durch absteigende Mengen Sublimat unter Zusatz von							
	0,1 ccm 0,85% NaCl Lösung beobachtet nach				0,1 ccm alk. Organextrakt (1%) beobachtet nach			
	$\frac{3}{4}^h$	$1\frac{1}{2}^h$	2^h	20^h	$\frac{3}{4}^h$	$1\frac{1}{2}^h$	2^h	20^h
0,4 $\frac{1}{1280}$	m	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,3	w	"	"	"	"	"	"	"
0,25	Spur	fast kompl.	"	"	"	"	"	"
0,4 $\frac{1}{6400}$	0	mäßig	"	"	"	"	"	"
0,3	0	0	mäßig	"	Spur	"	"	"
0,25	0	0	Spur	"	0	Spur	f. kompl.	"
0,2	0	0	0	"	0	0	m	"
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wenn also auch die Beschleunigung der Sublimathämolyse beim Kaninchenblut durch die kürzere Inkubationszeit weniger markant in Erscheinung tritt, so ist sie doch auch hier deutlich wahrnehmbar. Man könnte nun daran denken, daß die verschiedene Inkubationszeit der einzelnen Blutkörperchen mit der beschleunigenden Wirkung von Lipoiden in einem ursächlichen Zusammenhang stünde. Das Verhalten der von mir herangezogenen Blutarten (Kaninchen- und Hammelblut) würde in diesem Sinne insofern zu sprechen geneigt sein, als ein ähnlicher Unterschied sich auch bei der Kobragifthämolyse

dokumentiert. Das Kaninchenblut ist hierbei im Gegensatz zum Hammelblut bereits dem Kobragift gegenüber ohne Zusatz von Aktivatoren empfindlicher, und Kyes und Sachs¹⁾ haben ja die verschiedene Empfindlichkeit der Blutsorten gegenüber der Kobragifthämolyse auf den Gehalt der roten Blutzellen an disponiblen Lecithin bezogen. Es ist jedoch bereits von Sachs darauf aufmerksam gemacht worden, daß ein derartiger Vergleich nicht angängig erscheint, da die Empfindlichkeitsskala der verschiedenen Blutarten gegenüber der Sublimathämolyse und der Einwirkung von Kobragift sehr markante Differenzen aufweisen.

Was nun den Wirkungsmechanismus anbetrifft, so hatte bereits Sachs aus den angeführten Gründen zu der Auffassung geneigt, daß es sich nicht um Verbindungen des Sublimats mit dem Lecithin handelte, daß vielmehr die Lipide die hämolytische Wirkung des Sublimats irgendwie erleichtern dürften. In gleichem Sinne scheinen auch Versuche zu sprechen, die ich über das Zusammenwirken von Sublimat und alkoholischem Organextrakte bei der Hämolyse angestellt habe.

Wie bereits durch Dohi bekannt, wird das Sublimat in ziemlich rascher Zeit und in relativ großen Mengen von den Blutkörperchen aufgenommen. Um nun festzustellen, ob auch die mit Sublimat beladenen Blutkörperchen bei Zusatz von Organextrakt rascher gelöst werden, ging ich in folgender Weise vor.

Absteigende Mengen Sublimat wurden mit je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung im Volumen von 1,25 ccm $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 37° digeriert; dann wurde zentrifugiert, wobei Hämolyse auch bei den größten Sublimatdosen nicht wahrzunehmen war.

a) Die Sedimente wurden mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, nochmals abzentrifugiert und einerseits mit Kochsalzlösung allein (Tabelle III), andererseits mit Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,1 ccm 6-fach verdünnten alkoholischen Organextrakten aufgeschwemmt (Tabelle IV).

b) Die Flüssigkeiten wurden auf 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung gegossen (Tabelle III b) und in Tabelle IV b erfolgte noch Zusatz von je 0,1 ccm 6-fach verdünntem alkoholischen Organextrakt.

c) Kontrollversuch: Absteigende Mengen Sublimat wurden mit je 0,25 ccm Hammelblutaufschwemmung gemischt, in Tabelle IV unter Zusatz von je 0,1 ccm 6-fach verdünntem alkoholischen Organextrakt.

1) P. Kyes und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1903, No. 2—4.

Alle Röhrchen wurden durch physiologische Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen (1,4 ccm) gebracht.

Das Ergebnis nach 1 Stunde langem Aufenthalt bei 37° und weiteren 18 Stunden im Eisschrank zeigen die Tabellen III und IV.

Tabelle III.

Mengen der 1-proz. Sublimat- lösung	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Sublimat					
	a)		b)		c)	
	Nach vorheriger Bindung an das Blut ($\frac{1}{2}$ Std.)		Nach Vorbehand- lung des Sublimats mit Blut		Natives Sublimat	
	ccm	nach 1 ^h	Endresultat	nach 1 ^h	Endresultat	nach 1 ^h
0,4 $\frac{1}{90}$	fast kompl.	komplett	0	komplett	0	komplett
0,3	komplett	„	0	fast kompl.	0	„
0,25	stark	„	0	0	mäßig	„
0,4 $\frac{1}{100}$	Spur	„	0	0	Spur	„
0,4 $\frac{1}{200}$	Spur	„	0	0	0	„
0,4 $\frac{1}{400}$	0	„	0	0	0	„
0,3	0	„	0	0	0	„
0,25	0	„	0	0	0	„
0,4 $\frac{1}{1200}$	0	„	0	0	0	„
0,3	0	„	0	0	0	„
0,4 $\frac{1}{2500}$	0	„	0	0	0	„
0,3	0	fast kompl.	0	0	0	fast kompl.
0,25	0	stark	0	0	0	„
0	0	0	0	0	0	0

Tabelle IV.

Mengen der 1-proz. Sublimat- lösung	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Sublimat bei Zusatz von $\frac{1}{8}$ 0,1 ccm alkoholischen Organextraktes					
	a)		b)		c)	
	Nach vorheriger Bindung an das Blut ($\frac{1}{2}$ Std.)		Nach Vorbehand- lung des Sublimats mit Blut		Natives Sublimat	
	ccm	nach 1 ^h	Endresultat	nach 1 ^h	Endresultat	nach 1 ^h
0,4 $\frac{1}{90}$	komplett	komplett	0	komplett	kompl.	komplett
0,3	"	"	0	fast kompl.	fast k.	"
0,25	"	"	0	0	" "	"
0,4 $\frac{1}{100}$	"	"	0	0	" "	"
0,4 $\frac{1}{200}$	"	"	0	0	mäßig	"
0,4 $\frac{1}{400}$	"	"	0	0	0	"
0,3	"	"	0	0	0	"
0,25	fast kompl.	"	0	0	0	"
0,4 $\frac{1}{1200}$	wenig	"	0	0	0	"
0,3	0	"	0	0	0	"
0,4 $\frac{1}{2500}$	0	"	0	0	0	"
0,3	0	"	0	0	0	"
0,25	0	fast kompl.	0	0	0	fast kompl.
0	0	0	0	0	0	0

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. VII.

12

Aus den Tabellen ergibt sich mit Deutlichkeit, daß in der zum Digerieren benutzten Zeit von $\frac{1}{2}$ Stunde das Sublimat selbst in einem annähernd 30-fachen Multiplum der zur Hämolyse ausreichenden Menge von den Blutkörperchen fixiert worden ist, obwohl es auch in weit längerer Zeit nicht zur hämolytischen Wirkung kommt. Es ist andererseits ersichtlich, daß auch der beschleunigende Einfluß des Organextraktes auf die mit Sublimat beladenen Blutkörperchen deutlich in Erscheinung tritt. Wir können daraus schließen, daß es sich sicherlich nicht um eine Begünstigung der Aufnahme des Sublimats durch Vermittlung der Lipoiden handelt; denn wir haben ja gesehen, daß das Sublimat auch ohne Lipoidzusatz in erheblichem Ueberschuß von den Blutkörperchen in rascher Zeit gebunden wird und trotzdem die lange Inkubationszeit bis zum Eintreten der Hämolyse notwendig ist.

Versuche über die Beziehungen der in den Organextrakten vorhandenen beschleunigenden Stoffe zu den Blutkörperchen hatten vorläufig ein wechselndes Ergebnis. Zuweilen unterschieden sich die mit Organextrakt vorbehandelten Blutkörperchen nicht von den nativen Blutaufschwemmungen, zuweilen schien aber eine Aufnahme der beschleunigenden Komponente durch die Blutkörperchen stattzufinden, ohne jedoch einen solchen Grad aufzuweisen, daß die mit Blutkörperchen vorbehandelten Organextrakte ihre beschleunigende Wirkung einbüßten. Wir müssen daher die Entscheidung der Frage, ob die beschleunigenden Stoffe direkt auf die roten Blutkörperchen wirken, oder erst auf die mit Sublimat beladenen, noch dahingestellt sein lassen. Jedenfalls ergibt sich mit Sicherheit die Tatsache, daß Alkohol einerseits, Lipoiden andererseits die Sublimathämolyse in hohem Maße beschleunigen und unter Umständen verstärken können. Es liegt der Gedanke nahe, analoge Untersuchungen auch auf bakteriologischem Gebiete auszuführen, und theoretisch ergibt sich die Möglichkeit, daß durch geeignete Kombination von Sublimat mit Alkohol oder Lipoidlösungen die Desinfektionskraft gesteigert werden könnte.

II. Ueber den Einfluß des Sublimats auf die Wassermannsche Reaktion.

Was nun den Einfluß des Sublimats auf die Wassermannsche Reaktion anlangt, so ergibt sich aus den mitgeteilten Untersuchungen, daß die Kenntnis der hämolytischen Wirkung des Sublimats, auch unter Berücksichtigung der durch die Serumkomponenten bedingten Abschwächung, nicht ausreicht, um eine Uebersicht darüber zu gewinnen, ob die Aufhebung der positiven Reaktion durch Sublimatzusatz im Sinne einer Einwirkung auf den zur Komplementbindung führenden Prozeß zurückzuführen ist oder ob die positive Reaktion durch die hämolytische Wirkung des Sublimats bewirkt wird. Durch die Feststellung, daß nicht nur die Lipoide, sondern auch der Alkohol an und für sich die Sublimat-hämolyse beschleunigen und verstärken können, muß bei Verwendung alkoholischen Organextrakts in noch höherem Maße der Extraktkomponente besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden, und durch die Nichtbeachtung dieser zum wesentlichen Teil ja bereits durch Sachs bekannten Momente müssen die eingangs erwähnten Untersuchungen der Autoren als nicht beweiskräftig für die hier interessierende Frage betrachtet werden. So finden wir bei Epstein und Příbram zwar angegeben, daß ein Zusatz von Sublimat zu einem positiv reagierenden Serum die Wassermannsche Reaktion nicht in Erscheinung treten läßt, die Kontrollen geben aber nur Aufschluß darüber, daß die gleiche Sublimatmenge im Verein mit dem Patientenserum nach 2-stündiger Beobachtungszeit keine Hämolyse bewirkt, und sind daher für die Beurteilung unzureichend.

Was die Arbeit von Satta und Donati anlangt, so ist eine erschöpfende Beurteilung auf Grund der beigegebenen Protokolle nicht möglich. Die Arbeit von Királyfi¹⁾ endlich vertritt wohl mehr die Anschauung, daß die Aufhebung der Wassermannschen Reaktion durch Sublimatzusatz durch die hämolytische Wirkung des Sublimats bedingt ist. Jedoch erlauben die von diesem Autor mitgeteilten Versuchs-

1) Királyfi, Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 5.

protokolle keineswegs die Frage in dem einen oder anderen Sinne zu entscheiden.

Ich habe daher die Untersuchungen in dieser Richtung wieder aufgenommen und kann im folgenden berichten, daß von einer Aufhebung der Wassermannschen Reaktion durch Sublimatzusatz keine Rede sein kann.

Dabei bin ich in folgender Weise vorgegangen.

Absteigende Mengen von Sublimat wurden digeriert:

- a) mit Organextrakt, positiv reagierendem Syphilitikerserum und aktivem Meerschweinchenserum;
- b) mit Organextrakt, positiv reagierendem Syphilitikerserum und inaktivem Meerschweinchenserum;
- c) mit positiv reagierendem Syphilitikerserum;
- d) mit positiv reagierendem Syphilitikerserum und inaktivem Meerschweinchenserum.

Nach $\frac{1}{4}$ Stunden Aufenthalt bei 37° erfolgte Zusatz von Hammelblut und Ambozeptor.

Als einwandfreie Kontrolle zu dem Hauptversuch a kann nur die Versuchsreihe b gelten, die sich von a nur dadurch unterscheidet, daß das Meerschweinchenserum inaktiviert worden ist. Besondere Versuche hatten ergeben, daß sich die hemmende Wirkung des inaktiven Meerschweinchenserums gegenüber der Sublimathämolyse von derjenigen des aktiven Serums nicht unterscheidet.

Das Ergebnis zeigt Tabelle V, in der sowohl der nach 2 Stunden langem Aufenthalt bei 37° eingetretene Hämolysegrad notiert ist, auch als das nach 24 Stunden abgelesene Endresultat (siehe p. 181).

Aus der Tabelle ergibt sich, daß ein Zusatz von Sublimat allerdings das positive Ergebnis bei der Wassermannschen Reaktion aufhebt, aber ein Blick auf den Kontrollversuch b zeigt mit Deutlichkeit, daß es sich lediglich um die hämolytische Wirkung des Sublimats handelt. Die Hämolyse ist in der Reihe b ebenso stark, ja eher noch etwas stärker eingetreten, obwohl hier die Komplementhämolyse durch die Inaktivierung des Meerschweinchenserums ausgeschaltet war. Stellt man also den Versuch in dieser einwandfreien Weise an, so kann man weder bei zeitlicher noch bei endgültiger Beobachtung zu dem Schluß gelangen, daß Sublimat das Zustandekommen der Reaktion hindert. Ein Vergleich mit den Versuchsreihen c und d, die nicht als hinreichende Kontrollen gelten können, illustriert deutlich die irrtümliche Beurteilung, der die Autoren zum Opfer gefallen sind. Die Reihe c ent-

Tabelle V.

Mengen der 1-proz. Sublimat- lösung ccm	Nach 2 Stunden eingetretene Hämolyse von Hammelblut bei Zu- satz absteigender Sublimatmengen und des Gemisches von			
	a) $\frac{1}{8}$ 0,15 Extrakt + 0,025 Meer- schweinchenser. (aktiv) + 0,025 Syphilisserum + Ambozeptor (Haupt- versuch)	b) $\frac{1}{8}$ 0,15 Extrakt + 0,025 Meer- schweinchenser. (inaktiv) + 0,025 Syphilis- serum + Ambo- zeptor (richtige Kontrolle)	c) 0,025 Syphilis- serum + Ambo- zeptor (falsche Kontrolle)	d) 0,025 Syphilisser. + 0,025 Meer- schweinchenser. (inaktiv) + Ambozeptor (falsche Kontrolle)
0,3 $\frac{1}{40}$	komplett	komplett	komplett	komplett
0,25	"	"	"	wenig
0,4 $\frac{1}{60}$	"	"	"	0
0,3	"	"	0	0
0,4 $\frac{1}{100}$	"	"	0	0
0,3	wenig	fast komplett	0	0
0,25	0	Spur	0	0
0	0	0	0	0
Nach 24 Stunden eingetretene Hämolyse				
0,4 $\frac{1}{320}$	komplett Spürchen	komplett wenig Spürchen	komplett "	komplett Spur
0,3	0	0	"	0
0,25	0	0	fast komplett	0
0,4 $\frac{1}{640}$	0	0	Spürchen	0
0,3	0	0	"	0
0,25	0	0	0	0
0,4 $\frac{1}{1280}$	0	0	0	0
0	0	0	0	0

spricht dem von Epstein und Přibram mitgeteilten Kontrollversuch. Auch sie hätten aber zu dem trügerischen Ergebnis nicht gelangen können, wenn das Versuchsergebnis nach hinreichend langer Zeit abgelesen worden wäre. Wir ersehen aus dem unteren Teil der Tabelle V, daß in dieser Versuchsreihe das Sublimat innerhalb 24 Stunden noch stärker wirkt als in den beiden Reihen a und b, und das ist verständlich, wenn man berücksichtigt, daß zwar der beschleunigende Einfluß des Extraktes fehlt, dafür aber als hemmendes Agens nur das Syphilitiker Serum und nicht außerdem noch das Meer-schweinchenserum interferiert, wie dies in den Reihen a und b der Fall ist. Ganz anders müssen sich aber die Verhältnisse gestalten, wenn man das Ergebnis nach kürzerer Zeit, etwa nach 2 Stunden, wie dies in der Tabelle geschehen ist, beurteilt. Zwar muß auch hier die Hemmungswirkung durch

das Fehlen des Meerschweinchenserums eine geringere sein, aber dieses Moment genügt nicht, um die so starke beschleunigende Wirkung des Extraktes zu paralysieren, und so sehen wir, daß beim Ablesen des Versuchsergebnisses nach 2 Stunden, wie dies von seiten Epsteins und Pribrams geschehen ist, tatsächlich die Hämolyse in der Pseudokontrolle c noch nicht so weit fortgeschritten ist wie in den Reihen a und b. Es ist also zweifellos erwiesen, daß dem Sublimat ein Einfluß auf das Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion nicht zugesprochen werden kann.

Andererseits ist natürlich nicht zu bestreiten, daß eine hinreichende Sublimatmenge die Wassermannsche Reaktion durch Interferenz der Sublimathämolyse verdecken kann, und in praktischer Hinsicht erscheint daher die Frage noch diskutabel, ob nicht ein Quecksilbergehalt des Blutserums ein Negativwerden der Wassermannschen Reaktion vortäuschen kann. Wenn das aber der Fall wäre, so müßte man erwarten, daß das Serum der mit Quecksilber behandelten Patienten in den zur Wassermannschen Reaktion benutzten Mengen bereits an und für sich oder wenigstens nach Zusatz von alkoholischem Extrakt hämolytisch wirkt. Das ist nicht der Fall. Bereits Királyfi hat festgestellt, daß die in Frage kommenden Sera nicht hämolytisch wirken, und wenn auch dieses Versuchsergebnis insofern nicht ganz stichhaltig ist, als geringe Sublimatmengen erst durch die verstärkende Funktion von Alkohol und Lipoiden zur hämolytischen Wirkung gelangen, so kann ich dem hinzufügen, daß es mir bei einer Reihe von Serien solcher Patienten, die energisch mit Quecksilber behandelt worden waren, auch durch Zusatz von alkoholischem Extrakt in den verschiedenen Variationen nicht gelungen ist, eine hämolytische Wirkung zu erzielen. Man kann zu demselben Ergebnis aber auch rein rechnerisch gelangen. Wie sich aus der Tabelle V ergibt, ist 0,4 ccm einer $\frac{1}{320}$ -proz. Sublimatlösung die geringste Dosis, welche die positive Wassermannsche Reaktion hervorrufen kann. Wenn man daher annimmt, daß diese Dosis in der zur Verwendung gelangenden Menge des Patientenserum, d. i. 0,025 ccm, enthalten ist, so würde sich die bei einem Durchschnittsgewicht des Menschen

von 70 kg und einer etwa $\frac{1}{25}$ des Körpers entsprechenden Serummenge ergeben, daß das Serum allein die ungeheure Menge von 1,4 g Sublimat enthalten müßte, um eine Aufhebung der Wassermannschen Reaktion vorzutäuschen.

Auch aus den Arbeiten der Autoren kann man ähnliche Zahlenwerte berechnen. Die Voraussetzung von Királyfi, daß im Blut von Patienten, welche eine Quecksilberkur durchgemacht haben, hinreichende Quecksilberkonzentrationen vorhanden sein könnten, um die Wassermannsche Reaktion zu stören, muß irrtümlich erscheinen, da dieser Autor die von ihm zum Verdecken der Wassermannschen Reaktion im Reagenzglas erforderlich gefundene Quecksilberkonzentration von $\frac{1}{60000}$ als Maßstab annimmt. In Wirklichkeit befinden sich aber bei Királyfi in dem 6 ccm betragenden Gemisch nur 0,2 ccm des Patientenserums, und es müßte demnach das Patientenserum eine Quecksilberkonzentration von $\frac{1}{2000}$ besitzen. Rechnet man das in der angeführten Weise um, so ergibt sich in auffallender Uebereinstimmung mit unserem Wert, daß das Serum eine Sublimatmenge von 1,4 g enthalten müßte. Nicht viel geringere Zahlen ergeben sich aus den von Epstein und Přibram mitgeteilten Daten.

Wir können daher mit Sicherheit die Schlußfolgerung ziehen, daß auch eine Interferenz des Sublimats als hämolytischem Agens bei dem Negativwerden der Wassermannschen Reaktion im Verlauf der Quecksilberbehandlung ausgeschlossen werden muß. Diese auf experimenteller Basis wohlfundierte Tatsache steht ja mit der heute wohl allgemein geltenden und durch klinische Erfahrung erhärteten Anschauung im besten Einklang, daß die Wirkung der Quecksilbertherapie auf die Wassermannsche Reaktion eine indirekte ist, nicht das positive Resultat verhindernd oder beweisend, sondern gegen den syphilitischen Prozeß gerichtet¹⁾.

1) Ueber die vorliegenden Untersuchungen habe ich bereits in der wissenschaftlichen Vereinigung am städtischen Krankenhause in Frankfurt a. M. (Sitzung vom 20. April 1910) kurz berichtet. Inzwischen erhielt ich Kenntnis von der in No. 15 der Wiener klinischen Wochenschrift erschienenen Arbeit von Bruck und Stern, deren Ergebnisse meinen Schlußfolgerungen durchaus entsprechen. Allerdings kann ich nach meinen Untersuchungen der Auffassung dieser Autoren, der zufolge der alkoholische

Zusammenfassung.

1) Die Sublimathämolyse wird ebenso wie durch Lipide auch durch Organextrakte erheblich beschleunigt und geringgradig verstärkt.

2) Alkohol beschleunigt und verstärkt bereits an und für sich die Sublimathämolyse in hohem Maße.

3) Die beschleunigende Wirkung alkoholischer Organextrakte macht sich auch auf mit Sublimat beladene Blutkörperchen geltend. Das Sublimat wird in relativ kurzer Zeit von den Blutkörperchen in großer Menge (mindestens 30-fach lösender Dosis) aufgenommen, obwohl die hämolytische Wirkung erst nach wesentlich längerer Inkubation manifest wird.

4) Das Sublimat ist in vitro auf die Wassermannsche Reaktion ohne jeden Einfluß. Größere Sublimatmengen können durch ihre hämolytische Wirkung die Beurteilung des Ergebnisses der Wassermannschen Reaktion vereiteln.

5) Die zum Larvieren der Wassermannschen Reaktion erforderlichen Sublimatmengen sind jedoch so außerordentlich große, daß eine derartige störende Interferenz durch den Quecksilbergehalt des Blutserums völlig auszuschließen ist.

6) Die Einwirkung des Quecksilbers auf die Wassermannsche Reaktion in vivo kann daher nur indirekt durch Beeinflussung der für Syphilis charakteristische Blutveränderung bedingenden ursächlichen Momente veranlaßt sein.

Organextrakt als hämolytisches Agens interferieren soll, nicht folgen, muß vielmehr darauf hinweisen, daß die beschleunigende und verstärkende Wirkung des Extrakts auf die Sublimathämolyse einerseits auf die bereits durch Sachs erwiesene Rolle der Lipide bei der Sublimathämolyse, andererseits auf die von mir beschriebene verstärkende Wirkung des Alkohols zurückzuführen ist. Die beschleunigende und verstärkende Wirkung des Alkohols wurde in einer soeben nach Fertigstellung meines Manuskriptes erschienenen Arbeit von Satta und Donati (Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 20) auch von diesen Autoren beobachtet. Satta und Donati schließen sich nunmehr den bereits von Bruck und Stern gezogenen Schlußfolgerungen an, nach denen das Sublimat keinen Einfluß auf die Wassermannsche Reaktion ausübt.

Zusatz während der Korrektur: Inzwischen erhielt ich Kenntnis von den Arbeiten von Brauer (Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 17), sowie von Cziki und Elfer (Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 24), die zu wesensgleichen Schlußfolgerungen gelangten.

Nachdruck verboten.

[Biologisches Laboratorium zu St. Petersburg.]

Die schützende Rolle der Hoden und der Nebenhoden.

Von **S. Metalnikoff.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Mai 1910.)

Auf die schützende Rolle der Hoden und der Nebenhoden wurde ich ganz zufällig, gelegentlich des Studiums der Autospermotoxine und ihrer Wirkung auf die Spermatozoen, aufmerksam gemacht.

Die Möglichkeit, Autospermotoxine zu erhalten, habe ich vor einigen Jahren nachgewiesen (Ann. de l'Inst. Pasteur, 1900). Zu diesem Zwecke braucht man die Spermatozoen nur von ihrem gewohnten Aufenthaltsorte (d. h. dem Hoden und dem Nebenhoden) an irgendeine andere Stelle des Organismus, so z. B. in die Leibeshöhle oder unter die Haut überzuführen, worauf sich im Blute in Bälde ein starkes Toxin für die eigenen Spermatozoen herausbildet. Meine Versuche stellte ich an Meerschweinchen an. Zu diesem Zwecke wurde die Kastration des einen Testikels vorgenommen, aus welchem eine dünne Emulsion zubereitet wurde. Diese Emulsion wurde in die Bauchhöhle desselben Tieres, dem der Testikel entnommen worden war, eingespritzt. Nach 6—10 Tagen zeigten sich deutliche Anzeichen eines Spermotoxins. Während die Spermatozoen in normalem Serum lange Zeit hindurch leben können, gehen sie in spermotoxischem Serum nach wenigen Minuten zugrunde. Das auf diese Weise gewonnene autospermotoxische Serum besitzt die gleichen Eigenschaften wie jedes andere cytotoxische Serum. Bei dem Erwärmen auf 56° verliert es seine toxischen Eigenschaften, welche wiederum auftreten, wenn zu dem erwärmten Serum solches von einem normalen Tiere hinzugefügt wird. Das autospermotoxische Serum enthält demnach einen spezifischen Grundbestandteil (*corps sensibilisatrice* nach Bordet oder Fixator) und Alexine.

Es ist von Interesse, daß bei denjenigen Tieren, in deren Blut das Vorhandensein eines starken Spermotoxins beobachtet wird, die Spermatozoen im Organismus im Inneren der Hoden

und der Kanäle des Nebenhodens ebenso lebendig und beweglich sind, wie bei normalen Tieren. Augenscheinlich kann das Spermotoxin im lebenden Organismus, in vivo, seine Wirkung aus irgendwelchen Ursachen nicht an den Tag legen. Diese Erscheinung habe ich seinerzeit dadurch zu erklären versucht, daß im lebenden Organismus die beiden für die Wirkung des Toxins unentbehrlichen Grundsubstanzen, das Alexin und der Fixator, nicht gleichzeitig angetroffen werden: Während der Fixator frei im Blute zirkuliert, ist das Alexin in den weißen Blutkörperchen eingeschlossen und wird erst nach deren Zerstörung frei. Diesen Gedanken begründete ich auf nachstehender Beobachtung: nimmt man Spermatozoen eines spermotoxischen Tieres und verbringt dieselben in normales Serum, so gehen dieselben rasch zugrunde. Da nun in dem normalen Serum nur das Alexin enthalten ist, für die Wirkung des Toxins jedoch auch das Vorhandensein des Fixators notwendig ist, so schloß ich denn auch hieraus, daß der Fixator, indem er durch alle Organe zirkuliert, sich auf den Spermatozoen fixiert hatte, aber nicht imstande war, dieselben zu töten, da kein freies Alexin vorhanden war.

Diese Annahme erfuhr eine Bestätigung durch die Arbeiten von Gengou, Levaditi und anderen Autoren, welche mit Hilfe einer ganzen Reihe scharfsinniger Versuche den Nachweis lieferten, daß das Alexin in der Tat nicht frei im Blute zirkuliert. Im vergangenen Jahre erschien ein Aufsatz von Adler (Zeitschr. f. Immun., 1909), in welchem dieser Autor meine Beobachtungen über die Bildung der Autospermotoxine bestätigt. Ebenso bestätigt er auch die Beobachtung, daß bei Tieren, deren Blut ein starkes Spermotoxin enthält, direkt dem Nebenhoden entnommene Spermatozoen sich als lebend und unverletzt erweisen. Allein mit der Erklärung, welche ich für diese Erscheinung gegeben habe, ist Adler nicht einverstanden, indem seiner Ansicht nach die Spermatozoen spermotoxischer Tiere ebensogut in normalem Serum leben, wie die Spermatozoen normaler Tiere.

Da diese Frage mein Interesse von neuem in Anspruch nahm, stellte ich im Laufe des verflossenen Winters eine ganze Reihe von Versuchen über die Spermotoxine und ihre Wirkung innerhalb und außerhalb des Organismus an.

Die Spermotoxine entwickeln sich ebensogut bei den Männchen wie bei den Weibchen. 6—10 Tage nach der ersten Injektion der Hodenemulsion treten im Serum der Tiere scharf ausgesprochene Anzeichen des Spermotoxins auf. Führt man keine wiederholten Injektionen aus, so hält sich das Autospermotoxin etwa einen Monat lang in dem Körper, worauf es allmählich zu verschwinden beginnt.

Spermatozoen, welche dem Hoden eines starkes Spermotoxin enthaltenden Meerschweinchens entnommen werden, erweisen sich als lebend. Verbringt man dieselben in das Serum eines normalen Tieres, so bleiben sie noch ziemlich lange am Leben. Meine erste Beobachtung war demnach nicht richtig. Bald gelang es mir auch, die Ursache meines Irrtumes zu entdecken. Es handelt sich nämlich darum, daß ich früher zu meinen Versuchen die Spermatozoen nicht direkt aus den Kanälen des Nebenhodens entnommen, sondern einfach eine Emulsion aus dem Hoden und Nebenhoden bereitet hatte. Da nun an dem Hoden nicht selten einige Tropfen Blutes nach der Kastration zurückblieben, so konnten sich die im Blute enthaltenen Fixatoren auf den Spermatozoen fixiert haben. Aus diesem Grunde gingen die in normales Serum verbrachten Spermatozoen ebenso rasch zugrunde, als wären sie in spermotoxisches Serum überführt worden.

Nimmt man dagegen die Spermatozoen mittelst eines dünnen Kapillarröhrchens direkt aus den Gängen des Nebenhodens, so erweisen sich solche Spermatozoen ganz frei von Fixatoren und vermögen ziemlich lange Zeit hindurch in normalem Serum zu leben.

Die in den Kanälen des Nebenhodens enthaltenen Spermatozoen zeigen demnach ein durchaus normales Verhalten, obgleich das Blut des betreffenden Tieres ein sehr starkes Toxin enthält. Die Erklärung, welche ich dieser merkwürdigen Tatsache gegeben hatte, läßt sich nunmehr nicht mehr aufrecht erhalten, da sie auf einer irrtümlichen Beobachtung begründet war. Auch Dr. Adler gibt keine Erklärung für diese Erscheinung. Und doch schien mir diese Frage ein großes theoretisches Interesse darzubieten. Vor allem mußte festgestellt werden, ob die Spermatozoen leben bleiben würden, wenn man sie in die Bauchhöhle oder unter die Haut eines

Tieres einführt, welches Spermotoxin enthält, ob dieses Toxin in vivo wirksam sein würde?

Zu diesem Zwecke führte ich eine Emulsion lebender Spermatozoen zwei Meerschweinchen in die Bauchhöhle ein, einem normalen und einem spermotoxischen. Nach Ablauf einer bestimmten Zeit nahm ich von dem Exsudat der Bauchhöhle und untersuchte dasselbe unter dem Mikroskop. Während die Spermatozoen bei dem spermotoxischen Meerschweinchen in der Bauchhöhle nach wenigen Minuten zugrunde gehen, bleiben sie bei dem normalen Tiere längere Zeit hindurch am Leben. Außerdem erwies es sich, daß die Spermatozoen bei dem spermotoxischen Meerschweinchen mit überraschender Geschwindigkeit von den Leukocyten verschluckt werden. Schon nach 15—20 Minuten fällt es schwer, in der Bauchhöhle freie, nicht von den Phagocyten verschluckte Spermatozoen aufzufinden. Die Spermotoxine wirken demnach in vivo ebenso rasch wie in vitro, d. h. wie in dem Blutserum.

Welches ist nun der Grund, warum die Wirkung der Spermotoxine in den Hoden und den Nebenhoden verhindert wird? Es kann sich hier nur um eines von beiden handeln: entweder vermögen die Spermotoxine nicht in die Hoden und in die Kanäle des Nebenhodens einzudringen, wo eine ungeheure Menge von Spermatozoen aufbewahrt ist, oder aber es müssen in den Hoden und Nebenhoden irgendwelche Grundsubstanzen enthalten sein, welche die Wirkung der Toxine verhindern können. Um diese Frage zu beantworten, bereitete ich Extrakte aus dem Hoden und Nebenhoden und erprobte die Wirkung dieser Extrakte an spermotoxischem Serum. Schon die ersten Versuche zeigten, daß in den Extrakten des Hodens, namentlich aber in denjenigen des Nebenhodens ein sehr starkes Antitoxin enthalten ist, welches die Spermotoxine mit überraschender Geschwindigkeit neutralisiert.

Während die Spermatozoen in spermotoxischem Serum nach wenigen Minuten zugrunde gehen, können sie in einer Mischung von Serum und Extrakt mehrere Stunden am Leben bleiben. Extrakte aus anderen Drüsen und Organen des Meerschweinchens enthalten keine derartigen Antitoxine. Es erwies sich demnach, daß in den Hoden, besonders aber in

den Nebenhoden, spezielle Substanzen enthalten sind, welchen die Fähigkeit innewohnt, die Spermotoxine zu neutralisieren.

Es war von Interesse, festzustellen, ob diese Substanzen nur auf die spezifischen Spermotoxine wirken, welche in dem Serum gebildet werden, oder ob sie auch auf andere, die Spermatozoen tötende Toxine ihre Wirkung ausüben.

Bekanntlich wirkt das Serum der Kaninchen und vieler anderer Tiere als ein Toxin in bezug auf die Spermatozoen der Meerschweinchen. Es frug sich nun, ob das in den Nebenhoden enthaltene Antitoxin auch auf solche Toxine wirken würde?

Nachdem ich eine Mischung von Extrakt und Kaninchenserum zubereitet und Spermatozoen in dieselbe übergeführt hatte, überzeugte ich mich davon, daß diese Mischung die Spermatozoen nicht tötet, wogegen diese letzteren in Kaninchenserum allein binnen wenigen Minuten zugrunde gehen.

Den gleichen Versuch stellte ich mit Diphtherietoxinen an. Ich hatte zwei Diphtherietoxine verschiedenen Ursprungs zu meiner Verfügung. Das eine der Toxine tötete die Spermatozoen des Meerschweinchens im Verlauf von 5—10 Minuten, in dem anderen Diphtherietoxin dagegen blieben die Spermatozoen aus irgendwelchen Gründen viel länger am Leben. Zu meinem Versuch benutzte ich das stärkere Toxin, verdünnte dasselbe zur Hälfte mit Extrakt aus dem Nebenhoden, setzte diese Mischung 20—30 Minuten lang einer Temperatur von 37° aus und fügte dann lebende Spermatozoen hinzu. In dieser Mischung lebten die Spermatozoen im Verlauf von 2—3 Stunden, wobei sie fortwährend in Bewegung blieben.

Es erwies sich demnach, daß auch das Diphtherietoxin und die darin enthaltenen Substanzen, durch welche die Spermatozoen getötet werden, durch den Extrakt des Nebenhodens neutralisiert wurden, wie dies auch mit dem spermotoxischen Serum der Fall gewesen war.

Es mußte ferner festgestellt werden, zu welcher Kategorie von Substanzen jene in den Nebenhoden enthaltenen Grundsubstanzen gehören. Wie verhalten sich diese Substanzen vor allem den Temperaturen gegenüber. Zu diesem Zwecke wurden einige Portionen des Extraktes aus dem Nebenhoden bis auf

60°, 70°, 80° und 100° erwärmt und hierauf ihre neutralisierende Wirkung in bezug auf spermotoxisches Serum erprobt.

Dabei stellte es sich heraus, daß die auf 60° erhitzten Extrakte noch weiterhin neutralisierten, während die auf 70° und mehr erhitzten Extrakte keinerlei Wirkung mehr auf das spermotoxische Serum ausübten.

Aehnliche Versuche stellte ich mit Spermatozoen und Extrakten aus dem Nebenhoden des Ochsen an. Dabei stellte es sich heraus, daß der Extrakt aus dem Nebenhoden des Stieres in gleichem Maße die Fähigkeit besitzt, verschiedene Spermatozoen tötende Toxine zu neutralisieren, wie z. B. das Serum anderer Tiere, das Diphtherie- und das Choleratoxin. Geht hier nun in der Tat eine Neutralisierung des Toxins vor sich, oder besitzt der Nebenhodenextrakt nur die Fähigkeit, die Spermatozoen vor der Wirkung der Toxine und verschiedener schädlicher Substanzen zu verteidigen und zu schützen? Es sind dies Fragen, deren Lösung der nächsten Zukunft überlassen werden muß.

Einstweilen wird man sich mit Bestimmtheit dahin aussprechen können, daß in den Nebenhoden und zum Teil auch in den Hoden selbst irgendeine Grundsubstanz enthalten ist, welche die Fähigkeit besitzt, die Wirkung verschiedener Toxine auf die Spermatozoen zu verhindern.

Wie bekannt, werden die Spermatozoen in ungeheuren Mengen in den Hoden hervorgebracht. Je nach ihrem Heranreifen treten sie in die Kanäle des Nebenhodens über, wo sie augenscheinlich mehr oder weniger beträchtliche Zeit hindurch aufbewahrt werden können. Wenn in den Nebenhoden nicht spezielle Vorrichtungen vorhanden wären, durch welche die Spermatozoen gegen die unzähligen Mengen von verschiedenen, im Blute zirkulierenden Toxinen und Substanzen geschützt werden, so würde zweifellos die ganze, auf die Hervorbringung der allerwertvollsten, neuen Lebewesen ihren Ursprung gebenden Zellen gerichtete Tätigkeit des Organismus völlig nutzlos sein.

Zusammenfassung.

In Hoden und Nebenhoden sind Substanzen vorhanden, die die Wirkung verschiedener Toxine auf die Spermatozoen neutralisieren.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte in Berlin.]

Beitrag zur Kenntnis der Auflösung von Tuberkelbacillen in Neurin.

Von Oberarzt Dr. Lindemann,
kommandiert zum Kaiserl. Gesundheitsamt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Mai 1910.)

Ueber die Auflösung von Tuberkelbacillen durch Neurin berichten Deycke und Much-Hamburg in mehreren Arbeiten in der Münchner medizinischen Wochenschrift, 1909, No. 39 und in den Beiträgen zur Klinik der Tuberkulose, 1910, Bd. 15, Heft 2. Sie beschreiben eine restlose oder fast restlose Auflösung der Tuberkelbacillen, die überraschend schnell, bisweilen schon nach einigen Minuten, erfolgen soll. Löwenstein, der einen Teil der Untersuchungen nachgeprüft und im Centralblatt für Bakteriologie 1910 veröffentlicht hat, konnte diese Resultate nicht bestätigen, sondern fand das direkte Gegenteil, nämlich daß eine Auflösung so gut wie gar nicht zustande komme.

Im Kaiserlichen Gesundheitsamt wurden die Versuche, Tuberkelbacillen in Neurin aufzulösen, gleichfalls nachgeprüft.

Die angewendete Technik ist folgende: die Versuche wurden in kleinen Reagensröhrchen gemacht; es wurde stets mit den gleichen quantitativen Verhältnissen bezüglich des Lösungsmittels und der Bakterienaufschwemmung gearbeitet. Auf 0,2 ccm des Neurins kam ein Tropfen = 0,04 einer Bakterienaufschwemmung in Kochsalzlösung 1:100 bzw. 1:500; in anderen Fällen wurden zu 1,0 ccm 0,2 ccm der Aufschwemmung zugesetzt. Die Reagensröhrchen wurden bei 37° im Brutschrank gehalten und waren gegen Verdunstung durch Korken geschützt. Neben den Untersuchungen im gefärbten Präparat wurden solche im hängenden Tropfen vorgenommen. Die gefärbten Präparate wurden bei den ersten Versuchen über der Flamme, später ausschließlich in Alkoholäther (ää) fixiert, da es nur auf diese Weise möglich ist, die Neurinschicht auf dem Deckglas zum Trocknen zu bringen. Lufttrocken werden die

Neurinpräparate nicht und auch nach der Fixierung über der Flamme tritt schnell wieder eine Verflüssigung des Neurins ein, wenn die Färbung des Präparates nicht unmittelbar angeschlossen wird. Da auf dem Deckglas das Neurin schwer haftet, glaubt Löwenstein, daß es beim Färben samt den Tuberkelbacillen abgespült werden könnte, wodurch eine restlose Auflösung vorgetäuscht würde und empfiehlt deshalb das Aufkleben der Neurinpräparate mit Eiweißglyzerin auf dem Deckglase. Auch diese Methode haben wir bei der Nachprüfung teilweise benützt; doch haben wir zwischen den nach dieser Methode behandelten und den einfach in Alkoholäther fixierten Präparaten keinen wesentlichen Unterschied bemerkt.

Bei der Untersuchung im hängenden Tropfen wurde darauf geachtet, diesen zuerst einige Minuten auf dem Deckgläschen verdunsten zu lassen, weil er sonst nach dem Luftabschluß meist verläuft. Die Färbung wurde nach der gewöhnlichen Methode ausgeführt, Entfärbung entweder mit Salpetersäure und Alkohol oder mit 2½-proz. Salzsäurealkohol. Bei einem Teile der Versuche wurde darauf gesehen, daß die Präparate nach dem Fixieren und nach dem Färben an der Luft trockneten und nicht etwa beim Abtrocknen mit Filtrierpapier in Berührung kommen, um auch hierbei jede Möglichkeit eines Abwischens oder Abspülens der Bacillen auszuschließen. In anderen Fällen haben wir die in Alkoholäther fixierten Präparate ohne Nachteil zwischen Fließpapier getrocknet.

Es wurden im ganzen 8 verschiedene Tuberkelbacillensämme nach längerem und kürzerem Wachstum auf Bouillon untersucht. In einem Fall wurde eine humane Kultur einer Cervicaldrüsentuberkulose benützt, sonst aus menschlichem Sputum gezüchtete Kulturen, bei denen der Typus humanus festgestellt war; eine Kultur war jahrelang fortgezüchtet, die anderen erst seit kurzem isoliert. Bei einem Versuch wurde eine bovine Kultur benützt.

Bezüglich der Resultate ist zu bemerken, daß nur starke Differenzen in dem Bacillengehalt der Neurinröhrchen und der Kontrollen zu verwerthen sind, da man auf die Schätzung der durchschnittlich in einem Gesichtsfeld enthaltenen Bacillen angewiesen ist. Dies ist natürlich ungenau, zumal öfters zusammengeballte Bacillenkümpchen keine sichere Schätzung

zuließen. Die mit den verschiedenen Kulturen angestellten Versuche hatten im allgemeinen gleichmäßige Ergebnisse.

Bei der Besichtigung nach etwa 3 Minuten sah man in den mit der dickeren Aufschwemmung 1:100 ebenso wie in den mit der dünneren Aufschwemmung 1:500 versetzten Neurinröhrchen zahlreiche Bacillen ohne Unterschied zu den Kontrollpräparaten. Schon nach 1—2 Stunden war der Befund wesentlich anders: man fand zwar in allen Präparaten Tuberkelbacillen, aber stets viel weniger wie in den entsprechenden Kontrollen. Makroskopisch tritt schnell starke Aufhellung ein, ganz klar wurde die Flüssigkeit indessen nie. Jedoch traten auch in den Kontrollen mit Neurin-Kochsalzlösung nach längerem Stehen bei 37° Trübungen auf. Bei der Besichtigung nach 2 und 3 Tagen wurden noch vereinzelte Bacillen bisweilen in kleinen Häufchen gefunden, ebenso nach 5, 9 und 12 Tagen. In vielen Fällen, hauptsächlich bei Zusatz der Aufschwemmung 1:500, ließen sich positive Befunde erst nach langem Durchsuchen des ganzen Präparates feststellen; in einem Fall, und zwar bei der Untersuchung nach 12 Tagen, wurden keine Bacillen nachgewiesen, doch fanden sie sich wieder in demselben Röhrchen nach 20 und 25 Tagen. Bei den Besichtigungen im hängenden Tropfen ergab sich in Uebereinstimmung mit dem gefärbten Präparat ein allmähliches Verschwinden der Tuberkelbacillen; während nach 1 Stunde zahlreiche Bacillenhäufchen vorhanden waren, waren diese nach 24 Stunden schon sehr spärlich geworden, und nach Verlauf von mehreren Tagen bedurfte es auch hier längeren Suchens, um noch einzelne Bacillen zu finden. Die Untersuchung im hängenden Tropfen wird dann dadurch erschwert, daß im Neurin Trübungen entstehen, die sich mikroskopisch als kleine Präzipitathäufchen darstellen.

Bei einem weiteren Versuche wurden ebenfalls nach 23 Tagen noch vereinzelte Tuberkelbacillen festgestellt; nach dieser Zeit wurde die stark aufgehellte Flüssigkeit in einer Zentrifuge mit 4000 Umdrehungen $\frac{1}{2}$ Stunde zentrifugiert und das Sediment nochmals mit Kochsalz gewaschen. In dem geringen schwammigen Bodensatz fanden sich in jedem Gesichtsfeld einzelne Bacillen.

In den Kochsalzkontrollen konnte eine Abnahme der Bakterien nicht festgestellt werden; sie waren hier meist, namentlich bei den länger stehenden Versuchen, zu kleineren und größeren Haufen zusammengeballt.

Ganz anders verhielten sich die Resultate der gleichzeitig mit Natronlauge angesetzten Auflösungsversuche. Wir haben nach dem Vorgang von Löwenstein neben der Kontrolle mit Kochsalzlösung stets eine der Alkaleszenz des Neurins entsprechende Natronlaugenlösung genommen (nach Löwenstein $3\times$ normal). Der Versuch wurde ebenso gemacht wie der mit Neurin: zu 1,0 bzw. 0,2 ccm der Natronlauge wurden 0,2 bzw. 0,04 der Bakterienaufschwemmung zugesetzt. Bei der Besichtigung zeigte sich makroskopisch deutliche Klärung durch Natronlauge; mikroskopisch sah man nach 3 Minuten und $1\frac{1}{2}$ Stunden sehr viel Bacillen, nach 2 und 3 Tagen erheblich weniger, und dann nahm ihre Zahl weiterhin noch mehr ab; nach 8 Tagen waren im Vergleich zur Kontrolle nur noch recht spärlich nach Ziehl färbbare Tuberkelbacillen vorhanden. Es zeigt sich also, daß auch die Natronlauge eine stark lösende Wirkung auf Tuberkelbacillen hat; doch ist diese Wirkung schwächer als die des Neurins und geht langsamer vor sich. Aber auch insofern besteht ein Unterschied, als bei der mikroskopischen Beobachtung im hängenden Tropfen in den mit starker Natronlauge versetzten Röhrchen noch zahlreiche Häufchen sichtbar waren, die anscheinend Reste der Tuberkelbacillen enthielten, die sich aber bei der üblichen Färbung weder wie Tuberkelbacillen färbten, noch die Gegenfärbung annahmen.

Die Präparate haben wir meist in Alkohol-Aether fixiert, nachdem sie zuvor an der Luft getrocknet waren; man kann sie jedoch auch einfach feucht in Alkohol-Aether bringen und danach zwischen Fließpapier trocknen. Will man den Einfluß des Alkalis auf die Färbung vermeiden, so spült man die fixierten Präparate kurz in Wasser ab.

Da demnach auch der Natronlauge eine gewisse lösende Wirkung auf Tuberkelbacillen zugeschrieben werden muß, welche an der Wirkung des Neurins wohl mitbeteiligt ist, haben wir weiterhin die Wirkung verschiedener Konzentrationen der Natronlauge untersucht. Wir benützten dazu eine 6-fach,

3-fach, 2-fach, $\frac{1}{2}$ -fach und $\frac{1}{10}$ -fach normale Natronlauge. Die Ergebnisse waren folgende: 6-fach normale Natronlauge wirkt etwa ebenso wie 3- und 2-fach normale Lauge: es tritt makroskopisch starke Klärung ein und man sieht die oben schon beschriebenen lockeren Häufchen, die sich nicht zu Boden setzen, sondern in der Flüssigkeit schweben. Bei $\frac{1}{2}$ - und $\frac{1}{10}$ -fach normaler Natronlauge fanden wir einen Bodensatz von Tuberkelbacillen, der jedoch deutlich geringer war als in der Kontrolle; die gefärbten Präparate, die nach genügendem Durchschütteln gemacht wurden, bestätigten, daß insbesondere das mit $\frac{1}{2}$ -fach normaler Natronlauge versetzte Röhrchen ganz erheblich weniger Bacillen enthielt, als die Kontrolle.

Schon R. Koch hat bekanntlich die Einwirkung verschieden konzentrierter Lauge auf Tuberkelbacillen eingehend untersucht und mit $\frac{1}{10}$ -fach normaler Natronlauge ein Präparat hergestellt, das von ihm mit gutem Erfolg vielfach zur Behandlung tuberkulöser Patienten benutzt wurde (TA.). Die von Koch durch Lösung von Tuberkelbacillen in starken Alkalien bei Siedehitze erhaltenen Präparate besaßen dagegen keine immunisierende Wirkung.

Die durch Einwirkung der Natronlauge erhaltenen Lösungsprodukte der Tuberkelbacillen dürften namentlich im Hinblick auf die erwähnten Untersuchungen Kochs bei Immunisierungsversuchen neben den durch Neurin und andere neu empfohlene Mittel erhaltenen Präparaten heranzuziehen sein.

Während die Versuche hier im Gange waren, erschien im Centralblatt für Bakteriologie, 1910 (Heft 4) von Deycke und Much eine Entgegnung auf den oben zitierten Löwensteinschen Artikel; es ist hier neuerdings ein Versuch beschrieben, der in der Weise gemacht wurde, daß 1 g menschlicher Tuberkelbacillen mit 10 g Neurin verrieben wurden. Die Resultate waren die, daß die Neurinlösung, die 4 Stunden bei 37° im Brutschrank gestanden hatte, „stark geklärt und fast durchsichtig“ war; die bei 56° gehaltene Probe war „fast klar und ganz durchsichtig“. In dem Bodensatz der ersteren Mischung wurden mäßig viele, in dem der letzteren keine Tuberkelbacillen mehr gefunden. Wir machten eine Nachprüfung mit den gleichen quantitativen Verhältnissen: 0,1 g

Tuberkelbacillen auf 1,0 g Neurin, und kamen zu folgenden Ergebnissen: Die bei 37° gehaltene Mischung zeigte nach 4 Stunden einen dicken Bodensatz, der allerdings viel weniger massig war, als bei der Kontrolle mit Kochsalzlösung; der Bodensatz der bei 56° gehaltenen Probe war noch weit geringer (etwa $\frac{1}{3}$ des ersteren) und ziemlich locker. Mikroskopisch fanden sich bei der ersten Probe massenhafte, bei der zweiten noch ziemlich zahlreiche Bacillen. Die Präparate, die nach 24 und 48 Stunden gemacht wurden, enthielten nur noch vereinzelte Tuberkelbacillen.

Zusammenfassung.

Hiernach kommt dem Neurin ein starkes Auflösungsvermögen den Tuberkelbacillen gegenüber zu; bei unserer Versuchsanordnung trat allerdings nie eine vollständige Auflösungs sämtlicher Bacillen ein.

Bemerkung zu vorstehender Arbeit.

Von Paul Uhlenhuth.

Nachdem Deycke und Much auf der Leprakonferenz in Bergen in einer Diskussionsbemerkung mir gegenüber die Mitteilung gemacht hatten, daß es ihnen gelungen sei, Tuberkelbacillen aufzulösen, haben sie ihre Resultate in der Münchener medizinischen Wochenschrift, 1909, No. 39 veröffentlicht. Es läßt sich angeblich jeder Tuberkelbacillensamm in Cholin und Neurin auflösen; diese Auflösung erfolge am besten bei 37° und man stehe vor der Tatsache, daß es möglich sei, „mit relativ geringen Mengen einer rein darzustellenden Substanz eine große Masse von Tuberkelbacillen **restlos** aufzulösen und dies **innerhalb einiger Minuten**“. Nachdem Löwenstein diese Versuche nachgeprüft und abweichende Resultate erzielt hatte (Centralbl. f. Bakt., Bd. 53), erschien von Deycke und Much eine Erwiderung auf diese Arbeit, die aber in einem erheblichen Widerspruch zu ihrer ersten

Arbeit steht; denn es ist hier nichts mehr gesagt von einer „Auflösung bei 37° innerhalb einiger Minuten“, sondern es soll nach 4 Stunden bei 37° eine außerordentlich starke, aber nicht vollkommene Auflösung eingetreten sein; dagegen sei die bei 56° gehaltene Probe nach 4 Stunden vollkommen gelöst gewesen. Es ist immerhin auffällig, wenn eine mir gegenüber so bestimmt mit den Worten „quod erat demonstrandum“ aufgestellte Behauptung bereits kurze Zeit später keine Erwähnung mehr findet. Abgesehen davon konnte aber auch bei der Nachprüfung der Versuche im Kaiserlichen Gesundheitsamt nicht bestätigt werden, daß bei 56° eine vollkommene Auflösung erfolgte. Eine restlose Auflösung von Tuberkelbacillen, die etwa der von mir mit Antiformin bei anderen Bakterien festgestellten an die Seite zu stellen wäre, ist auch bis heute noch nicht gelungen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der K. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli).]

Ueber das Verhalten der anaphylaktischen Reaktionskörper gegen rote Blutkörperchen.

Von Assistenten Dr. L. Preti.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Mai 1910.)

Die folgenden Versuche beziehen sich auf die Frage, ob die anaphylaktischen Reaktionskörper von den roten Blutkörperchen normaler Tiere absorbiert werden können.

Die neuesten Untersuchungen von Doerr und Russ¹⁾ zeigen, daß das anaphylaktische Serum in Kontakt mit Gehirn-, Nieren- oder Darmbrei die Fähigkeit verliert, diejenigen Tiere, die solches Serum eingespritzt bekommen, passiv anaphylaktisch zu machen; daß diese Fähigkeit hingegen sich erhält, wenn das anaphylaktische Serum in Berührung mit Leberbrei, und noch mehr mit Herzmuskelbrei, kommt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3.

Durch diese Befunde haben meine Versuche ihr Interesse zum Teil eingebüßt; da aber die obengenannten Autoren gerade mit der Absorbierungsfähigkeit von Blutkörperchen sich nicht befaßt haben, so ist vielleicht ein kurzer Bericht über das Ergebnis meiner Versuche doch am Platze.

40 Meerschweinchen bekommen am 7. II. 0,01 ccm Hammelserum intraperitoneal; am 25. II. wurden die Tiere entblutet; das abgeschiedene Serum vereinigt.

Die Prüfung des Serums ergab folgende Resultate:

Meerschweinchen No. 41, 42, 43, 44, 45 bekommen je 4 ccm des Serums intraperitoneal, nach 24 Stunden No. 41, 42, 43 1 ccm frisches Hammelserum intravenös, No. 44, 45 0,2 ccm desselben intracerebral.

Meerschw. No. 41 stirbt sofort

„ „ 42 stirbt nach 5 Min.

„ „ 43 ist schwer krank und stirbt nach 1 Std.

„ „ 44 id., erholt sich aber noch

„ „ 45 id., stirbt nach 20 Min.

50 ccm des anaphylaktischen Serumgemisches werden mit 20 ccm 4mal gewaschener Meerschweinchenblutkörperchen versetzt.

Nach 30 Minuten Brutschrank bei 37° wird zentrifugiert und das abgegossene Serum noch 3mal in gleicher Weise behandelt.

Meerschweinchen No. 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54 bekommen je 4 ccm dieses Serums nach der letzten Zentrifugierung intraperitoneal. Nach 24 Stunden wurden Meerschweinchen No. 46, 47, 48, 49, 50 je 1 ccm frisches Hammelserum intravenös, und Meerschweinchen No. 51, 52, 53, 54 je 0,2 ccm intracerebral eingespritzt.

Meerschw. No. 46 stirbt nach 5 Min.

„ „ 47 ist schwer krank und stirbt nach 1 Std.

„ „ 48 id., erholt sich aber noch

„ „ 49 stirbt sofort

„ „ 50 stirbt nach 5 Min.

„ „ 51 ist schwer krank und stirbt nach 2 Std.

„ „ 52 stirbt nach 15 Min.

„ „ 53 ist schwer krank, erholt sich aber noch

„ „ 54 ist schwer krank, stirbt nach 24 Std.

50 ccm des anaphylaktischen Serumgemisches werden 5 Minuten lang mit Tierkohle geschüttelt und zentrifugiert. Das Serum noch 3mal mit Kohle versetzt. Nach der letzten Zentrifugierung bekommen Meerschweinchen No. 55, 56, 57, 58, 59 je 4 ccm dieses Serums intraperitoneal und 24 Stunden später Meerschweinchen No. 55, 56, 57 je 2 ccm frischen Hammelserums intravenös; Meerschweinchen No. 58, 59 erhalten je 0,2 ccm intracerebral.

Meerschweinchen No. 55, 56, 57, 58 sterben nach 5—10 Minuten; Meerschweinchen No. 59 ist schwer krank, erholt sich aber noch.

Zusammenfassung.

Aus den angeführten Protokollen geht also hervor, daß die anaphylaktischen Reaktionskörper weder von roten Blutkörperchen noch von Tierkohle absorbiert werden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli).]

Viskositätsniedrigung durch Gelatine-Antiserum.

Von Assistenten Dr. G. Izar.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Mai 1910.)

In letzter Zeit hat die Heranziehung physikalisch-chemischer Methoden in verschiedener Richtung zum Auffinden neuer Immunitätsreaktionen geführt. W. Weichardt¹⁾ hat auf die Diffusionsbeschleunigung bei der Antigen-Antikörperbeeinflussung hingewiesen. Auf diesem Boden entstanden ferner die schönen Untersuchungen E. Abderhaldens²⁾ und seiner Mitarbeiter mit der optischen Methode sowie die Meiostragminreaktion³⁾.

Gleichzeitig mit den Untersuchungen über das Verhalten der Oberflächenspannung habe ich die Frage der Beeinflussung der inneren Reibung bei den Immunitätsvorgängen in Angriff genommen. Wenn die Veröffentlichung der diesbezüglichen Resultate erst jetzt erfolgt, so liegt dies an der Tatsache, daß von mehreren in dieser Hinsicht untersuchten Objekten nur die Versuche mit Gelatine zu einem positiven Ergebnisse geführt haben. Darüber kurz zu berichten, dünkt mir auch deshalb angebracht, weil bisher eine Beeinflussung von Gelatine

1) Ueber Ermüdungstoffe. Stuttgart, Enke.

2) Medizin. Klinik, 1909, No. 41—46. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 64 u. 65.

3) Münchener med. Wochenschr., 1910, No. 2, 4, 7, Korresp. 8, 18, 21, 22; diese Zeitschr., Bd. 6.

durch Reaktionskörper allein durch die optische Methode von Abderhalden gelungen ist.

Zu meinen Versuchen benutzte ich ein Viscosimeter mit Thermostat und Toluolregulator nach Ostwald; da es mir allein darauf ankam, relative Werte zu ermitteln und zu vergleichen, begnügte ich mich mit der Bestimmung der Ausflußzeit bei für jede Versuchsreihe konstanter Temperatur und verzichtete auf die Bestimmung des spezifischen Gewichtes und die Berechnung von η . Es ist kaum nötig hervorzuheben, daß die Gemische vor der viskosimetrischen Bestimmung, die immer dreimal wiederholt wurde, genau auf die Temperatur des Wasserbades in demselben erwärmt wurden.

Als Versuchstiere wählte ich Kaninchen, welche wiederholt intra-peritoneal mit dialysierten und nachher sterilisierten Lösungen von Merck-scher Gelatine behandelt und 10 Tage oder länger nach der letzten Injektion zur Ader gelassen wurden.

Graues Kaninchen, Zeichen: Ring am r. Ohre.

- 8. XII. 09 4 ccm 5-proz. Gelatinelösung
- 11. XII. 09 2 " " "
- 15. XII. 09 2 " " "
- 18. XII. 09 2 " " "
- 28. XII. 09 Blutprobe
- 29. XII. 09 2 ccm 5-proz. Gelatinelösung
- 14. I. 09 2 " " "
- 26. I. 09 entblutet

Schwarzes Kaninchen, Zeichen: Ring am l. Ohre.

- 8. XII. 09 4 ccm 5-proz. Gelatinelösung
- 11. XII. 09 2 " " "
- 15. XII. 09 2 " " "
- 18. XII. 09 2 " " "
- 28. XII. 09 2 " " "
- 11. I. 10 Aderlaß
- 16. I. 10 2 ccm 5-proz. Gelatinelösung
- 26. I. 10 entblutet

- Kaninchen No. 32.
 20. IV.
 27. IV.
 29. IV.
 1. V.
 3. VI.
 5. VI.
 7. VI.
 9. VI.
 11. VI.

}
je 2 ccm 5-proz. Gelatinelösung
21. V. entblutet

Kaninchen No. 33. Behandelt wie No. 32

Versuch I.

29. XII. 10 Temperatur des Wasserbades 19°			29. XII. 09 Temperatur des Wasserbades 19°		
Gelatine-Kan., grau Ring am l. Ohr (Aderlaß 28. XII.)	Ausflußzeit		Frisches Kaninchen (Aderlaß 28. XII.)	Ausflußzeit	
	sofort	nach 2 ^h bei 37°		sofort	nach 2 ^h bei 37°
4,5 ccm Serum + 5,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	1' 21" ³ / ₅ 1' 21" 1' 21" ² / ₅	1' 20" ¹ / ₅ 1' 21" 1' 21" ¹ / ₅	4,5 ccm Serum + 5,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	1' 21" ² / ₅ 1' 21" ³ / ₅ 1' 21"	1' 19" 1' 18" 1' 18" ³ / ₅
4,5 ccm Serum + 4,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	1' 59" ² / ₅ 1' 59" ¹ / ₅ 1' 60"	1' 27" 1' 27" ¹ / ₅ 1' 27"	4,5 ccm Serum + 4,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	1' 58" ³ / ₅ 1' 57" ² / ₅ 1' 57"	1' 55" 1' 55" ¹ / ₅ 1' 54" ⁴ / ₅
1 ccm Serum + 9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	1' 17" 1' 16" 1' 16" ² / ₅	1' 16" 1' 16" ³ / ₅ 1' 16"	1 ccm Serum + 9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	1' 10" 1' 10" ² / ₅ 1' 10"	1' 9" ¹ / ₅ 1' 9" ¹ / ₅ 1' 9"
1 ccm Serum + 8 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	1' 47" 1' 47" ¹ / ₅ 1' 47" ¹ / ₅	1' 27" 1' 27" ⁴ / ₅ 1' 27" ² / ₅	1 ccm Serum + 8 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	1' 48" ³ / ₅ 1' 48" ³ / ₅ 1' 48"	1' 46" ³ / ₅ 1' 47" 1' 46" ³ / ₅

Versuch II.

Versuch III.

13. I. 10. Temperatur des Wasserbades 16°			27. I. 10 Temperatur des Wasserbades 14°		
Gelatine-Kan. schwarz Ring am r. Ohr (Aderlaß 26. I. 10)	Ausflußzeit		Gelatine-Kan. grau Ring am l. Ohr (Aderlaß 26. I. 10)	Ausflußzeit	
	sofort	nach 2 ^h bei 37°		sofort	nach 2 ^h bei 37°
4 ccm Serum + 6 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	1' 30" ² / ₅ 1' 30" 1' 31"	1' 28" ¹ / ₅ 1' 28" 1' 27" ⁴ / ₅	4 ccm Serum + 6 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	1' 40" 1' 41" 1' 40" ³ / ₅	1' 39" 1' 37" ³ / ₅ 1' 38" ³ / ₅
4 ccm Serum + 4 ccm NaCl-Lös. + 2 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	2' 20" ² / ₅ 2' 20" ¹ / ₅ 2' 20" ¹ / ₅	1' 55" ² / ₅ 1' 55" ⁴ / ₅ 1' 56"	4 ccm Serum + 5 ccm 1-proz.- Gelatinelösung ¹⁾	2' 15" 2' 15" ⁴ / ₅ 2' 15"	1' 45" 1' 46" ¹ / ₅ 1' 46"
4 ccm Serum + 5 ccm NaCl-Lös. + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	1' 61" 1' 61" ¹ / ₅ 1' 61" ³ / ₅	1' 35" ² / ₅ 1' 35" ¹ / ₅ 1' 35"	9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung ¹⁾	1' 31" ³ / ₅ 1' 31" ³ / ₅ 1' 31"	1' 29" ³ / ₅ 1' 28" ¹ / ₅ 1' 28" ² / ₅

1) Alle diese Gelatinelösungen waren vorher dialysiert und dann sterilisiert; zu den Kontrollversuchen mit Blutserum normaler Kaninchen wurde dieselbe Lösung benutzt.

Versuch IV.

23. V. 10 Temperatur des Wasserbades 38,7°			23. V. 10. Temperatur des Wasserbades 38,7°		
Gelatine-Kan. No. 32 (Aderlaß 21. V. 10)	Ausflußzeit		Frisches Kan. (Aderlaß 21. V. 10)	Ausflußzeit	
	sofort	nach 2 ^h bei 37°		sofort	nach 2 ^h bei 37°
5 ccm Serum + 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	$1'22''\frac{3}{5}$ $1'22''\frac{1}{5}$ $1'22''$	$1'22''$ $1'22''\frac{2}{5}$ $1'22''\frac{1}{5}$	5 ccm Serum + 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	$1'24''\frac{3}{5}$ $1'24''$ $1'24''$	$1'21''\frac{1}{5}$ $1'21''\frac{4}{5}$ $1'21''$
5 ccm Serum + 1 ccm $\frac{1}{50}$ Gela- tinelösung	$1'52''\frac{1}{5}$ $1'52''$ $1'51''$	$1'26''$ $1'26''\frac{3}{5}$ $1'26''\frac{1}{5}$	5 ccm Serum + 1 ccm $\frac{1}{50}$ Gela- tinelösung	$1'54''$ $1'53''\frac{3}{5}$ $1'53''\frac{1}{5}$	$1'51''\frac{3}{5}$ $1'51''$ $1'51''\frac{2}{5}$
5 ccm Serum + 1 ccm $\frac{1}{50}$ Gela- tinelösung	$1'38''\frac{2}{5}$ $1'38''\frac{3}{5}$ $1'38''\frac{1}{5}$	$1'25''$ $1'25''\frac{1}{5}$ $1'25''$	5 ccm Serum + 1 ccm $\frac{1}{50}$ Gela- tinelösung	$1'40''$ $1'40''\frac{1}{5}$ $1'39''\frac{1}{5}$	$1'37''\frac{3}{5}$ $1'38''\frac{1}{5}$ $1'38''$
5 ccm Serum + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung	$1'30''$ $1'29''\frac{3}{5}$ $1'29''\frac{1}{5}$	$1'23''$ $1'23''\frac{2}{5}$ $1'23''\frac{1}{5}$	5 ccm Serum + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung	$1'32''$ $1'31''\frac{1}{5}$ $1'31''\frac{2}{5}$	$1'31''$ $1'30''$ $1'30''\frac{2}{5}$

23. V. 10. Temperatur des Wasserbades 38,7°

Gelatine-Kan. No. 33 (Aderlaß 21. V. 10)	Ausflußzeit	
	sofort	nach 2 ^h bei 37°
5 ccm Serum + 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	$1'28''$ $1'28''\frac{1}{5}$ $1'27''\frac{3}{5}$	$1'26''$ $1'26''$ $1'26''\frac{1}{5}$
5 ccm Serum + 1 ccm $\frac{1}{50}$ Gela- tinelösung	$1'56''$ $1'56''\frac{1}{5}$ $1'56''\frac{3}{5}$	$1'36''$ $1'37''\frac{1}{5}$ $1'37''\frac{1}{5}$
5 ccm Serum + 1 ccm $\frac{1}{50}$ Gela- tinelösung	$1'46''\frac{4}{5}$ $1'46''\frac{1}{5}$ $1'46''$	$1'31''$ $1'31''\frac{2}{5}$ $1'31''$
5 ccm Serum + 1 ccm 1-proz. Gelatinelösung	$1'35''\frac{2}{5}$ $1'35''\frac{4}{5}$ $1'36''$	$1'27''\frac{4}{5}$ $1'27''\frac{2}{5}$ $1'27''\frac{3}{5}$

Versuch V.

27. V. 10 Temperatur des Wasserbades 38,3°.

	Gelatine-Kaninchen No. 32 (Aderlaß 21. V. 10)	Ausflußzeit		Frisches Kaninchen (Aderlaß 21. V. 10)	Ansflußzeit	
		sofort	nach 2 ^h bei 37°		sofort	nach 2 ^h bei 37°
A	3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 3 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung	1' 18" 1' 18" ¹ / ₅ 1' 18" ³ / ₅	1' 17" 1' 17" ¹ / ₅ 1' 17"	C	3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 3 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung	1' 15" ² / ₅ 1' 15" 1' 15" ³ / ₅
B	3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 2 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 49" 1' 48" ¹ / ₅ 1' 48" ² / ₅	1' 47" ³ / ₅ 1' 47" 1' 47" ¹ / ₅	D	3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 2 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 47" ⁴ / ₅ 1' 48" 1' 47" ³ / ₅

Nach Ablauf des Versuches werden zu jeder Probe 3 ccm frisches Normalserum zugesetzt.

A'	Probe A + 3 ccm frisches Normalser.	1' 29" 1' 30" 1' 29" ⁴ / ₅	1' 28" ¹ / ₅ 1' 28" 1' 28" ³ / ₅	C'	Probe C + 3 ccm frisches Normalser.	1' 27" 1' 27" 1' 26" ³ / ₅
B'	Probe B + 3 ccm frisches Normalser.	1' 61" 1' 61" ¹ / ₅ 1' 60" ⁴ / ₅	1' 59" 1' 59" ¹ / ₅ 1' 59"	D'	Probe D + 3 ccm frisches Normalser.	1' 59" ³ / ₅ 1' 60" 1' 60" ¹ / ₅

Versuch VI.

28. V. 10. Temperatur des Wasserbades 38°.

Gelatine-Kan. No. 33 (Aderlaß 21. V. 10)	Ausflußzeit		Frisches Kan. (Aderlaß 21. V. 10)	Ausflußzeit	
	Sofort	nach 2 ^h bei 37°		Sofort	nach 2 ^h bei 37°
3 ccm Serum + 3 ccm 0,85-proz. NaCl-Lös. + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 54" ⁴ / ₅ 1' 56" ² / ₅ 1' 55" ³ / ₅	1' 17" 1' 16" ¹ / ₅ 1' 16" ³ / ₅	3 ccm Serum + 3 ccm 0,85-proz. NaCl-Lös. + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 49" 1' 48" ² / ₅ 1' 48" ¹ / ₅	1' 48" ² / ₅ 1' 48" 1' 47" ¹ / ₅
3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 3 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 50" ¹ / ₅ 1' 51" 1' 51"	1' 49" ² / ₅ 1' 49" 1' 48" ¹ / ₅	3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 3 ccm 0,85-proz. NaCl- Lösung + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 47" 1' 47" 1' 46" ³ / ₅	1' 46" 1' 45" ² / ₅ 1' 45" ³ / ₅
3 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 3 ccm frisches Normalser. + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 61" 1' 60" 1' 60" ³ / ₅	1' 58" 1' 58" ¹ / ₅ 1' 57" ³ / ₅	2 ccm Serum 30' auf 56° erhitzt + 3 ccm frisches Normalser. + 1 ccm ¹ / ₂₀ Gelatinelösung	1' 53" 1' 54" 1' 53" ¹ / ₅	1' 51" 1' 52" 1' 51" ¹ / ₅

Aus den mitgeteilten Befunden geht hervor, daß sich beim Versetzen von Blutserum mit Gelatine behandelter Kaninchen, mit Gelatinelösungen in bestimmten Verhältnissen, nach 2-stündigen Verweilen bei 37°, eine ganz erhebliche Herabsetzung der Viskosität einstellt, die sich unter denselben Bedingungen nicht abspielt, wenn das Immunserum durch Normalserum ersetzt wird ¹⁾.

Mit letzterem ist die Viskositätsabnahme äußerst geringfügig; wie die Kontrollversuche zeigen, ungefähr gleich jener, welche dieselbe Gelatinelösung unter denselben Bedingungen in physiologischer Kochsalzlösung aufweist [vergl. auch Gokun ²⁾].

$\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 56° beraubt das Immunserum der beschriebenen Eigenschaft, die durch Zusatz von frischem Normalserum auch nicht restituiert wird.

Zusammenfassung.

Das Blutserum von mit Gelatine behandelten Kaninchen besitzt die Eigenschaft, in Berührung mit Gelatine die Viskosität herabzusetzen; durch $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 56° büßt es diese Eigenschaft ein.

1) Bei der kurzen Dauer der Versuche und der stattgefundenen Benutzung von sterilisierten Gelatinelösungen dürfte die Möglichkeit, daß die Viskositätsherabsetzung durch Gärungsvorgänge bakteriellen Ursprungs bedingt sei, kaum in Betracht kommen, was auch aus den unter denselben Bedingungen vorgenommenen Kontrollversuchen mit Normalseris sowie mit Gelatine und Kochsalzlösung allein hervorgeht.

2) Zeitschr. f. Industrie und Chemie der Kolloide, Bd. 3, Heft 2.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Studien über Anaphylaxie.

4. Mitteilung.

Zur Charakteristik des anaphylaktischen Shocks ¹⁾.

Von **A. Biedl** und **R. Kraus**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Mai 1910.)

I.

Jeder, der auf dem bereits heute so ausgedehnten literarischen Felde der Anaphylaxie Umschau gehalten, und die Probleme und deren Lösungsversuche in nähere Erwägung gezogen hat, wird mit Bedauern konstatieren, daß hier vielfach ein Mangel an Klarkeit und Objektivität in der Darstellung der tatsächlichen Befunde, ein Fehlen der Kritik bei der Beurteilung und namentlich beim Erwägen positiver und negativer Resultate gegeneinander, insbesondere aber des öfteren voreilige Verallgemeinerungen anzutreffen sind.

Nach Doerr ²⁾ ist die Ursache dafür, daß wir bei der Erklärung anaphylaktischer Vorgänge heute noch viele divergierende Hypothesen antreffen, in erster Reihe in der heterogenen Methodik zu suchen. Das Operieren mit bestimmten Eiweißstoffen, die Verwendung einer bestimmten Tierart, etwa die hochgradig empfindlichen Meerschweinchen, die gleiche Art der Sensibilisierung und der toxischen Reinjektion hätte — nach Doerr — zu Entscheidungen geführt, wo heute nur Kontroversen existieren (p. 50).

Die Auffassung Doerrs von der allein heilbringenden Bedeutung eines Testobjektes, an welchem man zunächst alle prinzipiellen Momente hätte festlegen sollen, dürfte allerdings kaum allgemeine Zustimmung finden. Sehen wir doch auch in allen anderen naturwissenschaftlichen Fragen, daß nur die Beobachtung und der Vergleich verschiedener Objekte und

1) Vorgetragen in der Sitzung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin am 18. Mai 1910.

2) Diese Zeitschrift, Ref., Bd. 2, 1910, Heft 7 u. 8.

unter verschieden variierten Versuchsbedingungen uns nähere Aufklärungen über das Wesen der Erscheinungen zu liefern vermag. Die Ursache der in der Anaphylaxiefrage noch bestehenden Unklarheiten können wir demnach nicht in technischen Mängeln und Ungleichmäßigkeiten, nicht in dem Umstande, daß neben Meerschweinchen auch Kaninchen und Hunde zu den Versuchen verwendet, daß die verschiedenartigsten Antigene in den verschiedenen Applikationsformen studiert worden sind, erblicken. Sie liegt unseres Erachtens vielmehr darin, daß man zuerst den Begriff der Anaphylaxie als einer nach der Einführung artfremder eiweißhaltiger Substanzen entstandenen spezifischen Ueberempfindlichkeit für dieselbe Substanz aus der Beobachtung abgeleitet, dann aber in ungenügender Weise abgegrenzt hat, so daß die differentesten Erscheinungen wahllos unter denselben Begriff subsumiert werden konnten. Man ging nun daran, eine Erklärung der anaphylaktischen Erscheinungen zu suchen, und wie wir sehen, wähten manche bereits eine umfassende Theorie der Anaphylaxie geben zu können, ohne vorher die für jede Erklärung unerlässlich notwendige Basis, eine klare und detaillierte Beschreibung der Erscheinungen zu besitzen.

D o e r r sagt selbst in dem angeführten Referate „man kennt bis jetzt als Reagens zur Beobachtung anaphylaktischer Vorgänge nur den Tierversuch“, muß aber bekennen, daß man sich bisher damit begnügt hatte, die Symptome des anaphylaktischen Shocks in ziemlich oberflächlicher Weise zu beschreiben. Wenn man sich aber begnügt, nicht näher geschilderte und toxikologisch nicht näher analysierte Komplexe von Erscheinungen als anaphylaktischen Shock zu bezeichnen, dann darf man sich nicht wundern, wenn so viele unausgeglichene Gegensätze nicht nur in hypothetischer, sondern auch in tatsächlicher Hinsicht auftauchen und bestehen. Hatte man doch vorerst nicht einmal die Gewähr dafür, daß in den Berichten über anaphylaktische Erscheinungen stets derselbe Symptomenkomplex gemeint wird. Nach den Erfahrungen, welche wir bei der Prüfung vorliegender Angaben machen konnten, können wir sogar mit Sicherheit behaupten, daß nicht allzu selten von Anaphylaxie gesprochen wird dort, wo das Fehlen wesentlicher Charaktere

des anaphylaktischen Shocks gar nicht zweifelhaft sein kann. Doch abgesehen von solchen, vielleicht nur auf das Konto des Einzelnen zu stellenden Irrtümern hatte der Mangel einer exakten Beschreibung der anaphylaktischen Erscheinungen noch die viel schwerwiegendere Konsequenz, daß der Anaphylaxiebegriff seine nach einer Richtung wenigstens unumstritten anerkannte Klarheit im Gewirre der Hypothesen verlor. Man definierte die Anaphylaxie als einen pathologischen Vorgang, welcher bei dem Zusammentreffen von Antigen (Anaphylaktogen) mit einem immunisatorisch im Organismus entstandenen Reaktionskörper zur Beobachtung gelangt. Diese Definition ist eigentlich nur eine Umschreibung der beobachteten Tatsachen. Nun soll es sich aber einer Theorie zuliebe nicht nur bei den bekannten Versuchsanordnungen der aktiven und passiven Anaphylaxie, sondern noch bei einer Reihe von anderen zum Teil schon lange bekannten Vorgängen um Anaphylaxie handeln.

Die Theorie erfordert es und so wird erklärt, daß immer dann, wenn man einem Tier ein gegen sein spezifisches Körperweiß gerichtetes Antiserum injiziert, ein anaphylaktischer Shock eintritt. Friedberger, Doerr und Moldovan haben die nach Injektion von Präzipitinen eintretenden Phänomene ganz allgemein als anaphylaktische bezeichnet und die Giftwirkung präzipitierender Sera mit der Serumanaphylaxie als wesensgleich erklärt. Mit den Argumenten für diese Annahme werden wir uns noch später befassen. Hier sei nur noch darauf hingewiesen, daß eine solche Identifizierung zweier Erscheinungen zunächst doch einen genaueren symptomatologischen Vergleich zur Voraussetzung hat, doch vermissen wir außer einigen ganz allgemein gehaltenen Bemerkungen jede nähere Angabe über die klinischen Erscheinungen.

Es wurden ferner auch die Erscheinungen, welche man an Tieren nach Injektion von gegen ihre eigenen roten Blutkörperchen gerichteten Hämolysine beobachten kann, von Friedemann¹⁾ als anaphylaktische angesehen, und trotz der Einwände von Kraus²⁾ sagt auch Doerr, „sie sind natürlich anaphylaktisch“. Die Möglichkeit, mit fremden Erythrocyten

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2.

2) Ebenda, Bd. 3.

als einem artfremden Eiweiß zu sensibilisieren und eine Blutkörperchenanaphylaxie zu erzeugen, kann a priori nicht bestritten werden, doch muß wohl jeder zugeben, daß die Existenz einer Blutkörperchenanaphylaxie erst dann als bewiesen anzusehen ist, wenn hierbei die Giftwirkung der im Serum mit-enthaltenen Hämolsine ausgeschaltet wird. Dieser Beweis lag aber bei Friedemann noch nicht vor. Es muß demnach als durchaus gerechtfertigt angesehen werden, wenn Kraus unter Hinweis auf seine Erfahrungen über die Wirkung hämolytischer Sera strengere Kriterien für die Blutkörperchenanaphylaxie gefordert hat. Die Existenz einer Blutkörperchenanaphylaxie hat Thomsen¹⁾ seither dadurch erwiesen, daß es ihm gelungen ist, Meerschweinchen mit kleinsten Mengen von roten Blutkörperchen zu sensibilisieren, ohne Hämolsine im Serum zu haben. Die Diskussion über die Existenz einer Erythrocytenanaphylaxie wäre aber wohl vermieden worden, wenn über jene Symptome, welche dem Bilde der Anaphylaxie angehören, genügende Klarheit geherrscht hätte.

Hatte man es bei dieser Form der Anaphylaxie noch mit Versuchen zu tun, welche nach ihrer Anordnung (Sensibilisierung und Reinjektion) zur Anaphylaxie zu rechnen waren, so gelangte man auf Grund der Theorie Friedbergers schließlich dahin, alle Erscheinungen, welche durch ein gegen das Körpereiweiß des Tieres gerichtetes Antiserum ausgelöst werden, ohne weiteres als Anaphylaxie zu erklären. Als Antiserum betrachtet aber Doerr auch gewisse Normalsera, welche für andere Tierspecies giftig sind, indem sie die roten Blutkörperchen schädigen bzw. auflösen. Nachdem wir aber wissen, daß völlig gleiche Krankheitsbilder, wie durch giftige heterologe Sera, auch durch andere hämolytisch wirkende Substanzen unter anderem auch durch intravenöse Injektion von destilliertem Wasser erzeugt werden können, mußte man folgerichtig in der Wirkung eines jeden gegen das Körpereiweiß gerichteten Giftes einen Spezialfall der Anaphylaxie erblicken können.

Das Bestreben, eine Theorie zu stützen, führt also schließlich dazu, in den Zellen des Organismus, welche doch bei jeder

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3.

Vergiftung den Angriffspunkt des Giftes bilden, ein zelliges Antigen und in jeder Vergiftung eine Anaphylaxie zu erblicken.

Diese Verwischung des Anaphylaxiebegriffes wäre vermieden worden, wenn man bei der Anaphylaxie, so wie es von jeher bei jeder Vergiftung geschah und bei der Prüfung einer jeden neuen Giftsubstanz stets noch geschieht, zunächst das Vergiftungsbild in erschöpfender Weise beschrieben und klar definiert hätte. Nur durch die Außerachtlassung dieses Hauptprinzipes der toxikologischen Forschung ist die Verwirrung in der Anaphylaxielehre entstanden. Es fällt wohl niemand ein, bei der Vergiftung mit Blausäure oder mit Strychnin oder mit einer unbekannten Giftsubstanz zuerst eine Erklärung zu suchen, bevor nicht eine klare Schilderung der klinischen Symptome und des pathologisch-anatomischen Befundes vorliegt.

Würde man in der Toxikologie, so wie es bei der Anaphylaxie vielfach geschehen ist, nur die Reaktion und das Zugrundegehen der Tiere als Kriterien für eine spezifische Intoxikation betrachten, dann könnte man zu einer Annahme von Wesensgleichheit bei Vergiftungen gelangen, die miteinander nicht das mindeste zu tun haben. Daß gerade unbekannte Giftsubstanzen eine besonders scharfe Präzisierung der Symptomatologie erfordern, wird wohl jeder zugeben.

Nach dieser Erörterung wird man uns zustimmen, wenn wir sagen, daß Theorien und Hypothesen zu einer Klärung in der Frage der Anaphylaxie so lange nicht führen werden, bis man die Symptome dieser Erkrankung nicht klar und scharf umgrenzt haben wird.

II.

Von solchen Erwägungen ausgehend, haben wir ein näheres Studium der Symptomatologie unternommen, wobei wir uns zunächst an die ursprüngliche Begriffsbestimmung der Anaphylaxie hielten. Bis zur Feststellung des toxikologischen Bildes konnte nur die aktive und passive Anaphylaxie im ursprünglichen Sinne in Betracht kommen. Den Gegenstand weiterer Untersuchungen mußte dann die Frage bilden, ob auch Versuchsanordnungen, welche auf andere Weise ange-

lich anaphylaktischen Shock auslösen sollen, dem Symptombilde und dem Sektionsbefunde nach zur Anaphylaxie zu rechnen sind. Wir können uns hier versagen, die experimentelle Analyse der von uns zunächst studierten Serum-anaphylaxie der Hunde ausführlich zu erörtern. Sie dürfte aus unseren Publikationen und unserem Vortrag auf der vorjährigen Tagung bekannt sein¹⁾. Daß die von uns beschriebene Blutdrucksenkung, die Ungerinnbarkeit des Blutes und die von einer Leukopenie eingeleitete Leukozytose für die Anaphylaxie der Hunde charakteristisch sind, wurde von vielen Seiten bestätigt. Ausdrücklich wollen wir aber, wie schon im Vorjahr gegen Arthus, diesmal gegen Friedemann betonen, daß diese Erscheinungen durchaus spezifische sind und daß sie, wie uns zahlreiche Kontrollversuche gelehrt haben, keineswegs als Wirkungen des heterologen Eiweißes zu betrachten sind. Die Richtigkeit dieser Versuche wird nicht, wie Friedemann sagt, erst durch die bestätigenden Versuche von Friedberger erwiesen. Die Bestätigung Friedbergers bezieht sich auf Angaben, die von uns niemals gemacht worden sind.

Friedberger und Hartoch²⁾ geben nämlich an, daß auch beim Kaninchen und Meerschweinchen die anaphylaktische Blutdrucksenkung nicht vermißt wird. Wie wir schon im Vorjahre erörtert haben, erscheint uns die sogenannte anaphylaktische Drucksenkung beim Kaninchen noch keineswegs erwiesen. Die Sensibilisierung der Kaninchen läßt bekanntlich häufig im Stiche, so daß diese Tiere für Versuche mit aktiver Anaphylaxie kaum geeignet sind. Auch in den Kurven Friedbergers sehen wir keinen typischen Druckabfall verzeichnet. Soweit wir selbst bei Kaninchen eine tiefe Drucksenkung, sowie Respirationsstörungen beobachten konnten, waren das stets Fälle, in welchen die Tiere innerhalb weniger Minuten zugrunde gegangen sind. Einen solchen, von dyspnoischen Erscheinungen begleiteten Druckabfall können wir in Übereinstimmung mit Braun³⁾ nicht als charakteristisch für

1) Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11; Centralbl. f. Bakt., 1909, Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Wien.

2) Diese Zeitschr., Bd. 3.

3) Diese Zeitschr., Bd. 3.

Anaphylaxie ansehen, sondern müssen denselben vorläufig als prämortale Erscheinung betrachten. Im ganzen glauben wir, daß es heute noch, solange eine nähere Analyse der Kaninchenanaphylaxie nicht vorliegt, nicht zweckmäßig erscheint, diese Tiere zur Entscheidung irgendwelcher Anaphylaxieprobleme heranzuziehen.

Was aber den Befund einer Blutdrucksenkung bei Meerschweinchen anbelangt, können wir demselben angesichts der später zu erörternden Phänomene bei diesem Tiere eine Bedeutung überhaupt nicht zuerkennen.

Die eigenartige Blutdrucksenkung ist, wie wir das von Anfang an betont haben, nur für den Hund charakteristisch, für das Kaninchen und das klassische Versuchstier, das Meerschweinchen, haben wir den anaphylaktischen Druckabfall niemals behauptet. Wir haben sogar auf die Verschiedenheit der Peptonwirkung bei diesen Tierarten ausdrücklich hingewiesen, so daß die Versuche von Werbitzky¹⁾, in welchen er die Wesensverschiedenheit der Peptonwirkung und der Anaphylaxie beim Meerschweinchen nachweist, eigentlich nur uns Bekanntes und bereits von uns Mitgeteiltes bestätigen. Ob damit auch die periphere Genese des anaphylaktischen Symptomenkomplexes entkräftet und die Annahme Besredkas, der zufolge der anaphylaktische Shock im Zentralnervensystem ausgelöst wird, gestützt wird, werden wir späterhin noch erörtern.

Die experimentelle Analyse der Meerschweinchenanaphylaxie zeigt uns am deutlichsten, daß auf diesem Gebiete eine voreilige Generalisierung nur den Fortschritt der Erkenntnis hemmt. „Hypothesen zeigen“, wie Doerr sagt, „nur einen kleinen Geltungsbereich, wenn man die Experimente an anderen Tierspecies wiederholt.“ Inwiefern dies richtig ist, werden wir noch später sehen. Die Prüfung der Erscheinungen an verschiedenen Tierarten betrachten wir gerade wegen der symptomatologischen Differenzen als eine dringend notwendige Vorarbeit.

Bei der Serumanaphylaxie der Meerschweinchen stehen Veränderungen der Atmung im Mittel-

1) Compt. rend. Soc. Biol., 1909, p. 1084.

punkte der Symptome. Die Tiere gehen bei der Reinjektion entsprechender Dosen im akut anaphylaktischen Shock an Erstickung zugrunde. Diese Respirationsstörungen, die bereits bei der Reinjektion minimaler Dosen in Erscheinung treten, entsprechen aber, wie dies Auer und Lewis¹⁾ zum erstenmal zeigen und wir²⁾ in eigenen Untersuchungen feststellen konnten, keineswegs einer gewöhnlichen Erstickung, sondern sind durch eine hochgradige Schwellung und Starrheit der Lungen hervorgerufen, die ihre Ursache in einem intensiven **Krampf der Bronchialmuskulatur** haben. Die Verzeichnung der Atembewegungen aus der Trachea und die gleichzeitige Registrierung der Kontraktionen der Atemmuskulatur zeigen deutlich, daß intensive Kontraktionen der Atemmuskulatur bestehen, während das Lungenvolumen keine Schwankungen erfährt. Bei dem Versuche, das Tier künstlich zu atmen, sieht man, daß es selbst bei Anwendung eines größeren Druckes unmöglich ist, Luft in die Lungen einzublasen bzw. aus der Lunge auszusaugen. Beobachtet man die Schwankungen einer von vornherein künstlich geatmeten Lunge, so sieht man unmittelbar nach der Reinjektion eine Vergrößerung der Lungenexkursionen, welche aber sehr bald von einer allmählich zunehmenden Verkleinerung gefolgt ist, bis dann ein Zustand eintritt, in welchem die maximal ausgedehnte Lunge durch die gleichzeitig weitergehende Einblasung und Aussaugung des Respirationsapparates keine Schwankungen des Volumens mehr erfährt. In dieser Phase bleibt auch die Herztätigkeit nicht mehr unverändert. Solange aber noch kräftige Herzschläge vorhanden sind, bewirkt die intravenöse Injektion geringer Atropindosen ein allmähliches Wiedereinsetzen der Lungenexkursionen, die dann zunehmen und endlich das Ausmaß vor der Seruminjektion nahezu vollkommen wieder erreichen können.

Durch den Atropinversuch ist der sichere Beweis erbracht, daß die Lungenschwellung und Starrheit durch eine tetanische Kontraktion

1) Journ. of the amer. Med. Assoc. 1909; The Journ. of exp. Medicine, 1900, Vol. 12.

2) Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 11.

der glatten Muskulatur der Bronchien hervorgerufen wurde. Hier sei nur noch kurz darauf hingewiesen, daß die völlig differente ja entgegengesetzte Einwirkung der anaphylaktischen Reinjektion auf anscheinend dieselben Gewebelemente, nämlich die glatte Muskulatur beim Hunde und beim Meerschweinchen, keineswegs gegen die Identität des anaphylaktischen Giftes spricht, denn es erstreckt sich die antagonistische Wirkung des Giftes in beiden Fällen auf verschiedene Innervationsgebiete, beim Hunde auf die sympathisch innervierte Gefäßmuskulatur, beim Meerschweinchen auf die autonom innervierten glatten Muskeln der Bronchien.

Den klinisch wahrnehmbaren Veränderungen der Respiration entsprechen charakteristische anatomische Befunde. Die Lunge eines in der Anaphylaxie zugrunde gegangenen Meerschweinchens ist von der eines auf sonstiger Weise erstickten Tieres makroskopisch und mikroskopisch leicht zu unterscheiden. Die anaphylaktische Lunge ist aufgeblasen, kollabiert nicht, ist dabei blutarm (blaß). Histologisch erweisen sich die Alveolen maximal erweitert, die Lumina der größeren und kleineren Bronchien stark verengt, die Schleimhaut der Bronchien in Falten gelegt, die Kapillaren nicht besonders blutreich.

In neueren Versuchen haben wir feststellen können, daß auch die passive homologe und heterologe Anaphylaxie im wesentlichen die gleichen klinischen und anatomischen Veränderungen am Respirationsapparate der Meerschweinchen hervorruft wie die aktive. Beobachtet man die Respirationsstörung und beachtet man den Lungenbefund, so kann man das Vorhandensein einer Ueberempfindlichkeit in sehr exakter Weise feststellen.

In bezug auf Bakterienanaphylaxie ist es bekannt, daß diese keineswegs konstant und ihr Vorhandensein anscheinend von der Art der Immunisierung abhängig ist¹⁾. Auf Grund unserer neueren Versuche müssen wir die Forderung aufstellen, daß das Vorhandensein einer Bakterienanaphylaxie

1) Holobut, Kraus und Amiradžibi, diese Zeitschr., Bd. 4.

nur dann behauptet werden soll, wenn die typische Respirationsstörung, die allerdings hier verschiedene Grade der Intensität aufweisen kann, nachzuweisen ist. Andere Symptome, wie Mattigkeit der Tiere, vorübergehende, zuweilen sich wiederholende leichte Muskelkrämpfe, sind unseres Erachtens für das Vorhandensein einer Anaphylaxie nicht beweisend.

III.

Die hier nur kurz erörterte experimentelle Analyse der Anaphylaxie beim Hunde und beim Meerschweinchen, die so gewonnene nähere Erkenntnis der Symptome des Vergiftungsbildes, ist unerlässlich notwendig, um zu einer Klärung der vielen strittigen Punkte in der Anaphylaxiefrage zu gelangen. Der Weg zu dem Verständnis ist aller dings jetzt noch vielfach durch Theorien verlegt. Es sei uns daher gestattet, die im Vordergrund der Diskussion stehende Theorie Friedbergers einer kritischen Besprechung zu unterziehen.

Nach dieser Theorie soll bekanntlich das Präzipitinogen und das Sensibilisinogen identisch und der anaphylaktische Shock nichts anderes als ein Zeichen der stattgefundenen Präzipitatabildung sein.

Der erste Einwand von Kraus und Novotný¹⁾ gegen die Friedbergersche Theorie bezog sich auf das Fehlen eines Parallelismus zwischen Präzipitinbildung und Anaphylaxie. Bei den mit kleinen Serumdosen sensibilisierten Meerschweinchen ist eine Präzipitinbildung nicht nachzuweisen und dennoch ist das Meerschweinchen das klassische Tier für die Anaphylaxie. Beim Hunde ist die Präzipitinbildung sehr schlecht, und doch ist die aktive Anaphylaxie der Hunde ein konstantes Phänomen.

Uhlenhuth und Händel²⁾ haben gefunden, daß es auf keine Weise gelingt, Hühner (im Gegensatze zu Tauben und Enten) gegen Säugetier- oder Vogeleiweiß aktiv anaphylaktisch zu machen, trotzdem diese Tiere hochwertige Präzipitine bilden.

Die Unmöglichkeit, passive Anaphylaxie beim Vogel durch Reaktionskörper von Säugern oder umgekehrt zu erzeugen,

1) Diese Zeitschr., Bd. 3.

2) Ebenda, Bd. 3.

erklärt Friedberger durch die Annahme, daß der Reaktionskörper kein passendes Komplement findet. Doch betonen Uhlenhuth und Händel, daß ihre Beobachtungen nicht in dem von Friedberger gedachten Sinne verwertet werden können, denn Moreschi fand, daß präzipitierende Säugersera auch Vogelkomplement zu fixieren imstande sind. Wenn demnach ein Parallelismus zwischen beiden biologischen Reaktionen bestünde, müßte eigentlich die Auslösung passiver Anaphylaxie bei Vögeln durch ein präzipitierendes Säugerserum gelingen.

In noch nicht veröffentlichten Versuchen von Kraus und Amiradžibi wird gezeigt, daß präzipitierendes Serum von Ziegen selbst in Dosen von 8 ccm nicht imstande ist, Meerschweinchen passiv zu sensibilisieren.

Im Gegensatz zu den Meerschweinchen sind die Kaninchen bekanntlich gute Präzipitinbildner, eignen sich aber nur sehr schlecht für die aktive Anaphylaxie. Die passive homologe Anaphylaxie ist beim Kaninchen überhaupt weder Uhlenhuth noch Kraus und Novotný (l. c.) gelungen, nur Friedberger will auch passive Anaphylaxie mit präzipitierendem Kaninchenserum gesehen haben. (Die Versuchsprotokolle Friedbergers lassen allerdings diese Schlußfolgerung nicht zu.) Neuere Versuche von Kraus, in welchen, wie auch schon früher, die quantitativen Verhältnisse berücksichtigt und größere Dosen eines stark präzipitierenden Kaninchenserums injiziert bis 8 ccm und 15 ccm reinjiziert wurden, blieben in bezug auf die Erzeugung der passiven Anaphylaxie wiederum ohne Erfolg. (Gemische eines präzipitierenden Kaninchenserums mit Antigen erweisen sich, entgegen den Angaben Friedemanns, nicht immer giftig für Kaninchen.)

Die heterologe Uebertragung von Kaninchen auf Meerschweinchen und wie wir zeigen konnten, auch auf Hunde, gelingt ohne weiteres.

In den Versuchen von Doerr und Russ, sowie in neueren von Doerr und Moldovan¹⁾, wird wohl gezeigt, daß bei der passiven heterologen Uebertragung von Kaninchen auf Meerschweinchen ein

1) Diese Zeitschr., Bd. 2, 5.

Parallelismus zwischen dem Präzipitinwert und dem Gehalt an Sensibilisin des Kaninchenserums nachweisbar ist. Man wird also die Möglichkeit des Parallelismus im Kaninchenserum nicht in Abrede stellen können. Kraus (l. c.) hat auch nie bestritten, daß die anaphylaktische Reaktion mit der Fällungsreaktion in vitro parallel gehen kann, doch betont, daß daraus auf eine Identität beider Erscheinungen bzw. auf eine identische Natur der sie bedingenden Körper nicht geschlossen werden darf. Sieht man doch, daß bei der Fällungsreaktion mittels spezifischer Präzipitine mit dem Präzipitinogen auch Agglutinine und Antitoxine quantitativ gefällt werden können (Hamburger und Dehne, Kraus und Přibram). Wie aus neueren Versuchen von Eisler und Tsuru¹⁾ hervorgeht, gelingt eine derartige quantitative Ausfällung mit Eiweiß adsorbierenden Substanzen, wie Tierkohle, Kaolin nicht.

Die Frage des Parallelismus wird übrigens neuestens in den Hintergrund gedrängt. Doerr und Moldovan sagen: „Selbst wenn dieser weitgehende Parallelismus nicht gegeben wäre, wenn sich Sera fänden, die auch bei entsprechender Methodik nur in vivo, aber nicht in vitro reagieren, müßte man mit der Negation der Identität von Präzipitin und anaphylaktischer Reaktionskörper doch vorsichtiger sein. Es ist die Möglichkeit gegeben, daß es bei hoher Empfindlichkeit der giftempfindlichen Zellen noch gelingt, im anaphylaktischen Experiment Präzipitinmengen nachzuweisen, welche in vitro nicht mehr unter Niederschlagsbildung reagieren. Umgekehrt werden minder empfindliche Tiere selbst durch hochwertige Präzipitinsera nicht passiv anaphylaxierbar sein, hier wäre der Reagensglasversuch das feinere Reagens.“ Zu dieser Art der Argumentation wäre folgendes zu bemerken. Wenn der Parallelismus von zwei Vorgängen und damit die Identität der sie auslösenden Substanzen behauptet wird, so muß sich diese Behauptung aus den Versuchen beweisen lassen. Den Mangel des Parallelismus in den Erscheinungen kann man nicht durch Annahmen, wie das einmal der Tierversuch, das andere Mal der Vitroversuch das feinere Reagens sei, ver-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6.

decken. Es gibt wohl Fälle, wo der Tierversuch zum Nachweise eines Agens das bessere Reagens darstellt. Es sei nur auf das bekannte Beispiel des muskarinisierten Froschherzens, durch welches Mengen von Atropin nachgewiesen werden können, die einem chemischen Nachweis nicht zugänglich sind, hingewiesen. Der bei der Anaphylaxie vorliegende Fall ist aber mit dem hier angeführten nicht zu vergleichen. Was wir wissen, ist, daß das Meerschweinchen für die Anaphylaxie ein äußerst empfindliches Tier ist. Daß der Meerschweinchenkörper auch für das Präzipitin ein empfindliches Reagens sei, müßte erst bewiesen werden. Das zu Beweisende wird aber hier schon als ein Beweisstück angeführt. Eine solche Art der Beweisführung ist unter der Bezeichnung *petitio principii* bekannt und verpönt.

IV.

Die bereits einmal modifizierte Friedbergersche Theorie erfuhr eine neuerliche Modifikation dadurch, daß dem Verhalten des Komplements beim anaphylaktischen Shock eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Es war durch einige Beobachtungen nachgewiesen, daß der anaphylaktische Shock mit einer Komplementverarmung des Blutes eingereht. Friedberger und Hartoch¹⁾ sahen bei der aktiven Anaphylaxie beim Meerschweinchen und Kaninchen nur eine geringe, bei der passiven heterologen Anaphylaxie (Kaninchen auf Meerschweinchen) eine hochgradige, bis zum völligen Schwund führende Abnahme des Komplements. Nach den Versuchen von Tsuru²⁾ dürfte aber der Komplementverarmung des Organismus bei der Anaphylaxie eine große Bedeutung kaum zuerkannt werden. Denn einerseits ist die Abnahme des Komplements bei aktiver und passiver homologer Anaphylaxie selbst bei Anwendung großer Reinjektionsdosen, auch wenn typische anaphylaktische Erscheinungen eingetreten sind, nicht hochgradig und nicht konstant. Andererseits fand Tsuru auch nach Injektion von 0,5—1 ccm Hundeserum bei normalen Meerschweinchen fast völligen Komplementschwund, ohne daß die Tiere Erscheinungen

1) Diese Zeitschr., Bd. 3.

2) Ebenda, Bd. 4.

darboten. Diese Angaben konnten durch Amiradžibi und Müller vollinhaltlich bestätigt werden ¹⁾).

Friedberger und Hartoch betrachten übrigens selbst die akute Komplementverarmung nicht als Ursache der Anaphylaxie, sondern meinen, daß ein ursächlicher Zusammenhang in dem Sinne besteht, daß das Komplement bei der Giftbildung eine Rolle spielt. Diese Annahme wird durch folgende Versuche zu stützen gesucht. Bekanntlich bleibt in hyper-tonischen Kochsalzlösungen in vitro die Hämolyse aus. Es wird angenommen, daß hierbei die Komplementbildung verhindert ist. Friedberger und Hartoch gingen nun daran, auch in vivo durch Injektion einer gesättigten Kochsalzlösung die Komplementverarmung zu verhindern und auf diese Weise aktiv und passiv sensibilisierte Meerschweinchen gegen die Wirkung der Reinjektion hoher Antigendosen zu schützen. Die schützende Wirkung von sogenannten kleinen Kochsalzdosen, worunter Mengen von 0,3—0,4 ccm einer gesättigten (32—39,5-proz.) Kochsalzlösung zu verstehen sind, war keineswegs befriedigend. Bei Anwendung von großen Dosen (0,6 bis 1,5 ccm) der saturierten Salzlösung, eventuell unter Zusatz von 1-proz. Chlorcalcium blieb eine Anzahl (5 aktiv und 6 passiv anaphylaktische) Tiere länger als 12 Stunden am Leben. Allerdings ging auch von diesen Tieren ein Teil angeblich an den Folgen des operativen Eingriffes zugrunde. Die Verhinderung des Komplementschwundes, welche die Voraussetzung des Versuches bildete, ist übrigens nach den Versuchsprotokollen nicht völlig eingetreten. Die von Friedberger und Hartoch publizierten Blutdruckkurven vom Kaninchen, durch welche die schützende Wirkung der Salzinjektionen gezeigt werden soll, können wir nicht als beweisend ansehen. Nachdem wir eine typische Eigentümlichkeit der anaphylaktischen Kurve beim Kaninchen nicht kennen, können wir auch die Veränderungen an der Blutdruckkurve nicht bewerten.

Die Nachprüfung dieser Versuche mit Kochsalz an Meerschweinchen begegnet großen Schwierigkeiten, nachdem eine äußerst langsame Injektion notwendig zu sein scheint, um die

1) Die Einwände, welche gegen die Stichhaltigkeit der Versuche von Tsuru erhoben wurden, erfahren in dieser Arbeit eine besondere Besprechung.

Tiere am Leben zu erhalten. Uns, wie schon Friedberger und Hartoch, gingen eine Anzahl von Tieren während der Kochsalzinjektion zugrunde.

Aehnlich erging es uns bei Hundeversuchen. Einige Tiere sind entweder während oder unmittelbar nach der Infusion der Kochsalzlösung unter hochgradigem Druckabfall akut zugrunde gegangen. Bei einem sensibilisierten Hunde von $9\frac{1}{2}$ kg sahen wir nach dem sehr langsamen Einfließen von 30 ccm gesättigter Kochsalzlösung eine tiefe Drucksenkung und dyspnoische Respiration. Dieses Tier erholte sich. Die sofort ausgeführte anaphylaktische Reinjektion erzeugte Exaltation, Blutdrucksenkung, Erbrechen, Kotentleerung, kurz das typische Bild der Anaphylaxie. Erst auf 0,02 g Chlorbaryum trat bei diesem Tier Druckanstieg und Erholung ein.

Auf Grund dieser Erfahrungen können wir nicht bestreiten, daß durch Kochsalz und vielleicht noch mehr durch das zugesetzte Chlorcalcium die anaphylaktischen Erscheinungen in ähnlicher Weise beeinflußt werden könnten, wie die anaphylaktische Drucksenkung durch das vasokonstringierende Chlorbaryum oder der anaphylaktische Bronchialmuskelkrampf durch das krampflösende Atropin.

V.

Im Mittelpunkt des Interesses stand von jeher die Frage nach der Natur des bei der Auslösung der Anaphylaxie wirksamen Körpers. Daß bei der Reinjektion eine toxische Substanz im Organismus entsteht, und daß die Anaphylaxie eine Vergiftung darstellt, wird von allen Seiten angenommen. Die Darstellung des Anaphylaxiegiftes bildete zweifellos ein wichtiges Postulat. Dieses glaubt Friedberger erfüllt zu haben, nachdem es ihm gelang, aus dem Präzipitat unter Hinzutritt von frischem Meerschweinchenserum als Komplement eine giftige Substanz zu extrahieren, die er als Anaphylatoxin bezeichnet.

Doerr und Russ haben gefunden, daß auch die in vitro hergestellten Präzipitate für normale Meerschweinchen toxisch sind. Eine nähere Schilderung der hier wahrnehmbaren Erscheinungen geben diese Autoren nicht, doch heben sie hervor, daß niemals Exitus eintritt. In dem Anaphylatoxin von Friedberger liegt aber eine Substanz vor, welche den

akuten Tod der Tiere herbeiführt. Auffallen mußte aber schon in den Versuchen von Friedberger der Umstand, daß sein Anaphylatoxin nur von der Blutbahn und nicht bei der Injektion ins Gehirn wirkt. Die zerebrale Reinjektion minimaler Serummengen löst nach Besredka bei sensibilisierten Tieren einen schweren anaphylaktischen Shock aus. Auch wir kennen aus eigenen Versuchen die Wirksamkeit der zerebralen Reinjektion beim Meerschweinchen und können betonen, daß die Erscheinungen, welche man nach der cerebralen Reinjektion beobachten kann, völlig gleich sind jenen nach der intravenösen Reinjektion. Es treten typische Respirationsstörungen, Lungenschwellung und Lungenstarrheit ein. (Nebenbei sei bemerkt, daß durch diese Versuche die Annahme einer Auslösung der anaphylaktischen Symptome im Zentralnervensystem auch für das Meerschweinchen widerlegt erscheint.)

Nachdem wir nunmehr den anaphylaktischen Symptomenkomplex scharf charakterisieren können, konnten wir auch der Entscheidung der Frage nähertreten, ob die Giftwirkung, welche Doerr und Russ durch Präzipitate auslösen und weiter jener akute Tod, welchen Friedberger nach intravenöser Injektion von Anaphylatoxin eintreten sah, zur Anaphylaxie zu rechnen sind oder nicht. Mit Präzipitat aus Pferdeserum genau nach der Vorschrift von Doerr und Moldovan bereitet, konnten wir auch dann keine Giftwirkung sehen, wenn das Doppelte der von ihnen angegebenen Dosis zur Anwendung gelangte. In jenen Versuchen mit Rinderserum, wo nach den Angaben von Doerr und Moldovan 3 ccm Kaninchenimmunserum plus 0,3 ccm Rinderserum gemischt nach 5 Minuten Stehenlassen normalen Tieren injiziert wurde, sahen wir wohl Vergiftungserscheinungen und selbst den Tod der Tiere. Doch konnten wir den gleichen Erfolg mit demselben Kaninchenserum auch ohne Zusatz von Rinderserum erzielen, und, was besonders wichtig erscheint, weder die Symptome der Vergiftung noch der Lungenbefund hatten irgendeine Ähnlichkeit mit dem bei der Anaphylaxie wahrnehmbaren ¹⁾.

1) In einer demnächst in dieser Zeitschrift erscheinenden Arbeit werden wir das Vergiftungsbild, welches durch giftige heterologe Sera er-

Die Nachprüfung der Angaben Friedbergers führte im wesentlichen zu demselben Resultate. Nach der intravenösen Injektion des genau nach seinen Angaben (l. c. p. 642) hergestellten Komplementextraktes aus dem Präzipitat (Rinder-serum und Kaninchenpräzipitin), des sogenannten Anaphylatoxins, gingen uns die Tiere akut zugrunde. Die Verzeichnung der Respiration zeigte jedoch keine für die Anaphylaxie charakteristischen Veränderungen, sondern bot dasjenige Bild dar, welches man bei einer gewöhnlichen Erstickung zu sehen bekommt. Die künstliche Atmung in der Phase der schwersten Respirationsstörung gelang bei diesen Tieren ohne Schwierigkeit. Ja, es war uns möglich, nicht nur die Fortdauer der Herztätigkeit, sondern in einigen Versuchen sogar ein Wiedereintreten der spontanen Atmung zu sehen¹⁾.

Wir können aus diesen experimentellen Versuchsergebnissen wohl mit Berechtigung den Schluß ziehen, daß das sogenannte Anaphylatoxin mit dem bei der Meerschweinchenanaphylaxie in Wirksamkeit tretendem Gift nicht identisch sein kann.

Zusammenfassung.

Diese kritische Besprechung der vorliegenden Hypothesen über Anaphylaxie hielten wir für notwendig und auf Grund unserer Versuche glauben wir uns zu derselben berechtigt.

Die Aufstellung einer allgemein geltenden Theorie haben wir selbst bisher aus den bereits erörterten Gründen vermieden.

Bei den bestehenden wesentlichen Unterschieden im Symptomenbilde bei verschiedenen Tierarten schien eine generelle Hypothese kaum gerechtfertigt.

zeugt wird, analysieren und gegenüber der anaphylaktischen Vergiftung differenzieren.

1) Friedberger demonstrierte nach unserem Vortrage die Lungenblähung beim Meerschweinchen nach intravenöser Injektion von Anaphylatoxin. Die Frage der Identität dieses Lungenbefundes mit den von uns beschrieben werden wir auf Grund eigener Versuche in unserer nächsten Mitteilung diskutieren.

Der in der ersten Mitteilung von uns aufgestellte Satz: „Die anaphylaktische Intoxikation wird durch ein Gift hervorgerufen, welches physiologisch als identisch mit dem Wittepepton zu betrachten ist“, sollte ausschließlich nur für den Hund gelten.

Beim Meerschweinchen wirkt das Wittepepton stark toxisch, doch sind die Erscheinungen in keiner Richtung jener beim Hunde ähnlich. Bei der näheren Prüfung der Vergiftungsbilder, welche man beim Meerschweinchen durch intravenöse Injektion 0,25–0,3 g Wittepepton (10-proz. wässrige Lösung) hervorrufen kann, zeigte es sich, daß die Erscheinungen, Störungen der Respiration, das physiologische und anatomische Verhalten der Lunge völlig gleiche waren jenen bei der Anaphylaxie.

Es ergab sich **eine vollkommene Identität in der Wirkung des Peptons und der bei der Anaphylaxie in Aktion tretenden toxischen Substanz auch beim Meerschweinchen¹⁾.**

Auf die vom pharmakologischen Standpunkte interessante, aber keineswegs ohne Analogie dastehende Tatsache, daß ein und dieselbe Substanz das Pepton bei verschiedenen Tierarten völlig differente, ja entgegengesetzte Wirkungen entfalten kann, sei hier nur in Kürze hingewiesen.

Für die Anaphylaxiefrage erscheint aber damit die vorhin nur als möglich hingestellte Annahme einer Identität des Anaphylaxiegiftes bewiesen und der für die Anaphylaxie des Hundes ausgesprochene Satz kann nunmehr auch auf die des Meerschweinchens ausgedehnt werden. Pfeiffer und Mita²⁾ haben bereits früher die Peptontheorie auch auf die Meerschweinchenanaphylaxie ausgedehnt und waren bemüht, in eigenen Versuchen diese Theorie zu stützen.

In der Wesensgleichheit der Peptonwirkung und der Anaphylaxie bei den bisher geprüften Tierarten ist jetzt eine gesicherte Grundlage für eine allgemeine Theorie der Anaphylaxie vom allgemeinen Geltungsbereich gegeben.

1) Centralbl. f. Physiologie, 1910.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militär-sanitätskomitees in Wien.]

Die Wirkung toxischer Normal- und Immunsera als anaphylaktische Reaktion ¹⁾.

Von Privatdozent Dr. R. Doerr und Dr. J. Moldovan.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Mai 1910.)

Einleitung.

Die ersten Beobachtungen über die akute Giftwirkung **heterologer Normalsera** wurden am Menschen gemacht, als man versuchte, verschiedene Formen von Anämien durch Transfusion von Tierblut kompensatorisch zu beeinflussen. Wiederholt folgten auf solche Eingriffe Vermehrung der Respirationsfrequenz bis zur Atemnot, Krämpfe, akuter Tod durch Asphyxie, Symptome, die eine auffallende Aehnlichkeit mit den Erscheinungen des anaphylaktischen Shocks besitzen, wie man sie bei größeren und kleineren Versuchstieren, sowie auch beim Menschen (Flexner, Otto, Currie) nach endovenöser Reinjektion körperfremden Eiweißes auftreten sieht. Landois, dem wir eingehende Studien über die Transfusion verdanken, fand, daß nicht nur Tierblut für Menschen, sondern ganz allgemein das Blut einer Species für eine andere gefährlich werden kann und sucht die Ursache darin, daß die Blutsera mancher Tiere schon unter normalen Verhältnissen die Erythrocyten anderer Arten zu lösen vermögen; durch diesen Vorgang werde eine Verstopfung lebenswichtiger Gefäßbezirke durch die verklebten Stromata der hämolysierten Blutkörperchen, vielleicht auch ein Freiwerden giftiger Kalisalze herbeigeführt, die dann unmittelbar zum Tod durch Asphyxie oder Herzstillstand Veranlassung geben.

1) Im Auszuge vorgetragen auf der 4. Tagung der Freien Vereinigung der Mikrobiologen, Berlin, Mai 1910.

Eine wesentliche Erweiterung erfuhren unsere Kenntnisse über die Toxizität artfremder Normalsera durch Uhlenhuth, der dieses Problem seit dem Jahre 1897 wiederholt experimentell bearbeitet hat. Uhlenhuth konnte zeigen, daß frisches normales Rinder-, Schweine-, Hammel- und Menschenserum in verhältnismäßig kleinen Dosen Kaninchen bei intravenöser, Meerschweinchen auch bei intraperitonealer Injektion akut zu töten vermag, daß dagegen andere Serumarten, wie Pferde- und Eselserum, diese Fähigkeit nicht besitzen. Die subkutane Applikation giftiger Normalsera, besonders frischen Rinder- oder Schweineserums, ruft nach Uhlenhuth bei jungen Meerschweinchen lokale Infiltrate hervor, die in Nekrose und Geschwürsbildung übergehen. Es sei schon hier darauf hingewiesen, daß diese örtliche Wirkung, wie auch Uhlenhuth und Haendel zugeben, gewisse Analogien mit jenen Gewebszerstörungen darbietet, die Arthus durch wiederholte subkutane Injektion ungiftigen Pferdeserums beim Kaninchen, Lewis beim Meerschweinchen, Stanculeanu und Nita beim Menschen zu erzeugen vermochten, und die in der Literatur unter dem Namen der „lokalen Anaphylaxie“ bekannt sind. Die nekrotisierende Wirkung normalen Rinderserums bestätigte auch H. Pfeiffer. Da nun frisches Rinderserum energisch Meerschweinchenerythrocyten löst, da es durch Erwärmen auf 56—60° oder längeres Stehen diese Eigenschaft einbüßt, wobei gleichzeitig die nekrotisierende Komponente verschwindet, so lag es ja von vornherein nahe, zwischen der hämolytischen und nekrotisierenden Fähigkeit einen direkten Kausalnexus zu supponieren. H. Pfeiffer erklärt die Nekrose auch in der Tat als eine unmittelbare Hämolysinwirkung, während Uhlenhuth und Haendel zwar ebenfalls einen komplexen Prozeß, ein Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement annehmen, diese Serumstoffe aber von den hämolytischen abtrennen. Die Veranlassung hierzu bot die Beobachtung, daß manche Sera, wie besonders die ganz junger Ferkel, mancher Kaninchen oder Hühner zwar Meerschweinchenerythrocyten in vitro lösen, aber subkutan injiziert keine Nekrose erzeugen. Wir kommen hierauf noch zurück, möchten aber an dieser Stelle bemerken, daß die Hämolysen, d. h. der Austritt des Hämoglobins, nur ein Symptom der Schädigung

einer bestimmten Zellart bedeutet; ihr Ausbleiben oder Auftreten im Reagenzglase läßt daher die Frage offen, ob nicht dieselben Faktoren an Erythrocyten oder gar anderen Zellarten anderweitige Läsionen bedingen können. Es erscheint ratsam, zur Entscheidung andere Momente heranzuziehen und für die cytotoxische Wirksamkeit resp. Identität bestimmter Ambozeptoren und Komplemente nicht die Hämolyse als ausschließliches Kriterium zu verwenden. Uhlenhuth und Haendel nehmen weiter an, daß die bei intrakardialer oder intraperitonealer Injektion frischen Rinderserums beobachteten Giftwirkungen auf Stoffen beruhen, die sowohl von den nekrotisierenden als von den hämolytischen völlig abgetrennt werden müssen, da Erwärmen auf 60° zwar die letzteren Eigenschaften beseitigt, die Toxizität aber nur reduziert, indem 0,5—1,0 ccm intrakardial noch akut tötet. Beim Stehen nimmt dagegen die Giftigkeit schneller ab, als der Komplementgehalt des Serums. Diese Angaben stehen, wie Uhlenhuth und Haendel betonen, im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Autoren.

Endlich fand auch Kraus, daß Ziegenserum, welches in vitro Kaninchenerythrocyten löst, in hohen Dosen intravenös Kaninchen akut unter anaphylaxieartigen Symptomen tötet, subkutan Nekrosen provoziert.

Ueber die Giftwirkung gewisser **Immunsere** berichteten zuerst Belfanti und Carbone im Jahre 1898. Sie hatten ein Pferd intraperitoneal mit steigenden Dosen Kaninchenblutes immunisiert und fanden, daß das Serum desselben, zwei Wochen nach der letzten Injektion entnommen, für Kaninchen toxisch war. Gegen normales Pferdeserum waren Kaninchen unempfindlich. — In gleicher Weise erhielten die Autoren durch Vorbehandlung von Meerschweinchen mit Kaninchenblut resp. von Kaninchen mit Hundeblut für Kaninchen resp. Hunde toxische Immunsere. Belfanti und Carbone glauben, daß die Toxinbildung nur dann eintritt, wenn man zur Vorbehandlung der Tiere defibriniertes Blut, nicht aber, wenn man zellfreies Serum verwendet und neigen daher der Ansicht zu, daß die Giftproduktion an die roten Blutzellen gebunden sei. Bei aufmerksamer Lektüre ihrer Arbeit fällt indes auf, daß sie zur Stütze dieser Behauptung nur eine

Versuchskombination heranzogen. Sie fanden nämlich, daß Hunde bei Vorbehandlung mit Kaninchenserum niemals für Kaninchen toxische Sera liefern; wir wissen aber, daß Hunde auf die Injektion artfremder Sera überhaupt nicht oder nur schwer mit der Bildung von Antikörpern, z. B. Präzipitinen reagieren, so daß wir sagen müssen, daß dieser Teil der Versuche von Belfanti am untauglichen Objekt angestellt und daher nicht beweisend sei. Neuerdings teilt Kraus mit, daß er ein Kaninchen mit Hundeserum vorbehandelt und ein Immunserum gewonnen habe, welches auf Hunde fast gar nicht wirkte; indes war dieses Serum zwar nicht hämolytisch, aber auch nicht in nennenswertem Grade (Titer 1:100) präzipitierend. Aus einem Experiment von Uhlenhuth, sowie aus zahlreichen unserer im Folgenden mitgeteilten Versuche geht aber mit Sicherheit hervor, daß Kaninchen bei entsprechender Immunisierung mit zellfreiem Meerschweinchen-serum hochwertig präzipitierende und nur schwach oder gar nicht hämolytische Sera liefern, welche eine hochgradige Toxizität für Meerschweinchen aufweisen.

Als Bordet die Entdeckung gemacht hatte, daß die nach Belfantis Vorgang gewonnenen Immunsera die zur Vorbehandlung benützte Erythrocytenart in vitro spezifisch lösen, zögerten die meisten Autoren nicht, als Ursache der Toxizität die Hämolyse, oder genauer ausgedrückt, eine in vivo stattfindende Hämolyse zu betrachten, eine Anschauung, welche in den Experimenten von Bordet, Cantacuzène und Gruber eine Bestätigung fand. Nur Kraus und Sternberg schlossen sich dieser Auffassung nicht an, sie betrachteten vielmehr die akuten Erscheinungen, speziell auch den akuten Tod als Folge einer rein toxischen, von der Lyse oder Agglutination der Erythrocyten völlig unabhängigen Wirkung. Allerdings hat Kraus diesen Standpunkt in einer neueren Publikation insofern verlassen, als er die Giftigkeit der Normal- und Immunsera für unvorbehandelte Tiere wieder in direkte Abhängigkeit von ihrem Gehalt an Hämolysebringen bringt.

In die gleiche Kategorie, wie die Versuche von Belfanti und Carbone gehören die akuten Giftwirkungen der zahlreichen in der Literatur beschriebenen sogenannten Cyto-

toxine. Vor allem wäre das „Leukotoxin“ zu nennen, welches Delezenne und Metschnikoff durch Immunisierung von Meerschweinchen mit dem *Pancreas aselli* und dem Knochenmark von Kaninchen erhielten, ferner die sogenannten „neurotoxischen Sera“, erhalten durch Immunisierung von Enten mit Hundegehirn (Delezenne und Mde Metschnikoff) und zahlreiche andere akut wirkende Cytotoxine (Cesaris-Demel und Sotti, Bierry und Meyer, Sivr , Landsteiner, Moxter u. a.), welche alle das gemeinsam haben, daß sie nicht streng organspezifisch waren, sondern stets auch artspezifische Antikörper (Präzipitine, Hämolysine) enthielten, auf welche wohl die akuten Giftwirkungen zurückzuführen waren. Aber auch die jüngst von Joannovics festgestellte akute Giftwirkung hepatotoxischer Sera mit ausgesprochen organotroper Wirkung (erhalten durch Immunisierung von Katzen mit Katzenlebern, also unter Ausschaltung artfremden Eiweißes) sind kaum als Folge einer akuten Leberl sion aufzufassen, sondern wohl von denselben Gesichtspunkten aus zu verstehen, wie die Shockwirkung anderer Immunsera.

Der größte Teil dieser Versuche fällt in eine Periode, in welcher das Phänomen der Anaphylaxie noch unbekannt war. Aber auch später, als bereits die anaphylaktischen Experimente allseits in Aufnahme gekommen waren, war man weit entfernt, die primäre Giftwirkung normaler und immunisatorisch erzeugter Sera als anaphylaktische zu deuten, trotz der allen Beobachtern auffallenden Aehnlichkeit der Symptome. Erst nachdem durch die Untersuchungen von Friedberger, Friedemann, Doerr, Russ und Moldovan der Mechanismus des anaphylaktischen Shocks als Eiweißantigen-Antikörper-Komplementreaktion *in vivo* erkannt worden war, begann man von der bis dahin allein maßgebenden Versuchsanordnung nach Arthus und Theobald Smith abzuweichen und alle jene Phänomene als anaphylaktische zu erkennen, welche der Bildung eines Giftes aus Eiweißantigen, Antikörper und Komplement ihre Entstehung verdanken. Das ist nun nicht nur bei der „aktiven“ und „passiven“ Anaphylaxie der Fall, sondern kann auch auf anderem Wege erreicht werden. So injizierten Doerr und Russ Antigen-Antikörperverbindungen (Präzipitate); durch das im Tierkörper disponible

Komplement wurde die Giftbildung ausgelöst. Friedemann erhielt das fertige Gift in vitro durch Einwirken von Komplement auf sensibilisierte Blutkörperchen und in ähnlicher Weise stellte Friedberger durch Digerieren von Präzipitaten mit Komplement das für Meerschweinchen akut wirksame „Anaphylatoxin“ in vitro dar. Daß übrigens die Giftbildung bei der Friedemannschen Versuchsanordnung nicht auf die Hämolyse als solche zurückzuführen ist, geht schon daraus hervor, daß sie schon vor Eintritt der Hämolyse erfolgte und wird weiter in glänzender Weise bewiesen durch Friedbergers¹⁾ Blutschattenversuche, welche lehren, daß auch aus Stromata, also nach erfolgter Lyse, durch Ambozeptorkomplementeinwirkung Anaphylatoxinbildung möglich ist. Man sieht also, daß trotz der Identität der dabei in Betracht kommenden Komponenten, die Toxinbildung mit der Lyse nichts zu tun hat.

Als Anaphylaxie sind aber nach unserem Dafürhalten auch jene Giftwirkungen zu deuten, welche nach Injektion eines auf das Serumeiweiß oder die Zellen des Versuchstieres selbst passenden Antikörpers — unter Heranziehung des Komplementes — auftreten, wie in den Experimenten von Landois, Uhlenhuth, Belfanti etc. In gleicher Weise sind die im folgenden mitgeteilten, bei Meerschweinchen durch Injektion von Meerschweinchenpräzipitin resp. Hämolysin erzeugten Shockwirkungen zu verstehen.

Schwieriger sind jene Giftwirkungen zu erklären, welche nach einmaliger Injektion solcher Immunsera auftreten, welche weder das Serum noch die Blutkörperchen des Versuchstieres in vitro beeinflussen, wir meinen die primär toxische Wirkung präzipitierender (Friedberger und Hartoch) und hämolytischer Antihammelsera vom Kaninchen. Friedberger suchte den Mechanismus dieser Giftwirkung dadurch zu erklären, daß er in den wirksamen Seren neben den Antikörpern auch Antigenreste supponierte, so daß es nach der Injektion nur des Hinzutrittes des Komplementes bedürfe, um die Anaphylatoxinbildung zu ermöglichen, eine Annahme, die durch die neuesten Experimente des Autors wesentlich gestützt

1) 4. Tagung der freien Vereinigung der Mikrobiologen, Berlin, Mai 1910.

erscheint. Wir haben uns gleichfalls mit der primären Toxizität solcher Immunsera befaßt, die keine vitro-Wirkung auf Eiweiß oder Zellen des empfänglichen Tieres erkennen lassen, mußten uns aber auf Hammelpräzipitine und Hammelhämolsine vom Kaninchen beschränken, da die Experimente mit anderen Immunseris (Antirinder- und Antipferdesera) bisher einen negativen Verlauf nahmen.

Frägt man sich nun, welche Momente noch herangezogen werden können, um die Giftwirkungen der besprochenen Sera als anaphylaktische zu kennzeichnen, so wäre in erster Instanz der Komplementverbrauch im Shock zu erwähnen. Er ist bei der aktiven und passiven Anaphylaxie konstant, weil es ja das Komplement ist, welches aus dem ambozeptor-beladenen Antigen das Gift abspaltet; er müßte also auch die akuten Giftwirkungen der Normal- und Immunsera begleiten. Unsere zahlreichen, sorgfältigen Komplementtitrationen zeigen, daß diese Annahme zutrifft — mit einer sehr instruktiven Ausnahme. Das Aalserum erzeugt keinen Komplementschwund, weil sein Ambozeptor, wie bekannt, durch Säugerkomplement nicht komplettierbar ist; damit stimmt auch die Tatsache, daß inaktiviertes Aalserum atoxisch ist.

Ferner mußte man imstande sein, den hämolytischen Immunseris durch Adsorption mit homologen Erythrocyten die Toxizität zu entziehen (Friedberger). Die ambozeptor-beladenen Erythrocytensedimente dagegen mußten anaphylaktische Symptome auslösen, wie wir das am Paradigma eines Meerschweinchenhämolsins mit positivem Erfolge durchführten.

Endlich versuchten wir durch Immunisierung eines Kaninchens mit hämolytischen Ambozeptoren Antiambozeptoren zu erzeugen, und nahmen an, daß dieses Serum die primäre Giftwirkung des zur Vorbehandlung benutzten Immunhämolsins paralysieren müsse durch Elimination des für die Anaphylatoxinbildung essentiellen Ambozeptors. Auch diese Voraussetzung traf zu.

Viel weniger Wert legten wir auf die klinischen Analogien zwischen anaphylaktischem Shock und der primären Giftwirkung der Normal- und Immunsera. Daß hier eine völlige äußere Uebereinstimmung besteht, haben selbst Gegner unserer Auffassung wie Kraus hervorgehoben, und zwar gilt dies

für Hunde, Kaninchen, Meerschweinchen und auch für den Menschen in gleicher Weise. Auch die experimentelle Analyse der Symptome fördert nur Analogien zutage. So fand Mioni, daß die intravenöse Injektion von Blutkörperchen, die durch Hundeserum gelöst werden, bei Hunden den Blutdruck herabsetzt, und daß die Wiederholung der Injektion nach mehreren Tagen nicht denselben Erfolg hatte. Es ist klar, daß es sich hier um die Umkehrung des Uhlenhuthschen Versuches (Injektion von Normalhämolysinen) handelt; die arterielle Pression, welche Biedl und Kraus bei Hundeanaphylaxie als konstant und wesentlich bezeichnen, war also auch hier vorhanden und von deutlicher Antianaphylaxie gefolgt. Auch der Leukocytensturz ist vorhanden. — In unseren Meerschweinchenexperimenten achteten wir vornehmlich auf das Symptom von Auer und Lewis; es war nicht nur die typische Form der Dyspnoë mit inspiratorischem Einsinken der Thoraxwände nach Rinder-, Aalserum, nach Meerschweinchenpräzipitinen und Hämolysinen, nach Antihammelseris zu konstatieren, sondern auch der autoptische Befund der verendeten Tiere zeigte die von Biedl und Kraus so betonte Lungenstarre und Lungenblähung in oft maximaler Ausprägung. Durch präventive intravenöse Injektion von 5 mg Atropinum sulfuricum konnten wir die Dyspnoe verhindern und die Tiere blieben nach sicher letalen Dosen von primär toxischen Seris am Leben durch antagonistische Beeinflussung der glatten Bronchialmuskulatur. Nur durften die Serummengen nicht allzu groß sein; es geben ja auch Biedl und Kraus an, daß Atropin den anaphylaktischen Shock nur dann paralyisiert, wenn die reinjizierten Antigenmengen die einfach tödliche Menge nicht oder nur wenig übersteigen. Dabei handelte es sich uns nur darum, zu zeigen, daß auch in experimentell-pathologischer Beziehung keine Differenzen bestehen, welche berechtigen würden, die primäre Giftwirkung der Normal- und Immunsera von den anaphylaktischen Reaktionen abzutrennen. Von diesem Standpunkte aus war es uns auch wertvoll, daß nicht nur nach Rinderserum, sondern auch nach subkutaner Injektion von Aalserum und Hammelhämolysin die lokale Nekrosenbildung

zu beobachten war. Kraus, der nach subkutaner Injektion von Immunhämolytinen bei Kaninchen ebenfalls Nekrosen auftreten sah, führt diese Erscheinung auf die Wirkung der hämolytischen Fähigkeit zurück. Dies kann aber unmöglich für Antihammelsera gelten, welche Meerschweinchenerythrocyten gar nicht lösen und bei welchen wir mit Friedberger die Bildung eines anaphylaktischen Giftes aus Ambozeptor und Antigenresten bis auf weiteres annehmen müssen.

Keineswegs aber können wir Biedl und Kraus beipflichten, daß ein einziges Symptom, wie etwa die Lungenstarre, als ausschließliches Kennzeichen für anaphylaktische Vorgänge zu betrachten sei, wenn auch, wie erwähnt, in unseren Experimenten diese Forderung erfüllt schien. Biedl und Kraus konnten ja selbst dieses Phänomen beim Meerschweinchen durch Wittepepton erzeugen und erklären nun, daß das Pepton, oder genauer ausgedrückt, die Peptonwirkung mit der des anaphylaktischen Giftes identisch sei. Diese Annahme ist aber nicht zulässig bei einem anderen Gifte, durch welches wir das Lungensymptom in höchster Intensität bei Meerschweinchen akut zu erzeugen vermochten. Es ist dies das Saponin, von dem 5—10 mg, endovenös injiziert, akuten Tod bedingen, dem die Auer-Lewissche Dyspnoe vorangeht. Wir behalten uns vor, über den Mechanismus der Saponinwirkung, welches subkutan auch Nekrosen bedingt, weitere Studien anzustellen, sowie auch über die Wirkung anderer hämolytischer Gifte, z. B. des Arachnolysins und das Fehlen oder Vorhandensein von Beziehungen zu den anaphylaktischen Phänomenen. Vorläufig teilen wir nur die Saponinbefunde mit, um zu zeigen, daß es bedenklich ist, aus einem Symptom die Anaphylaxiediagnose zu machen und von vornherein solche Substanzen, die es hervorrufen, mit den anaphylaktischen Giften zu identifizieren. Wissen wir doch aus der Toxikologie, daß sehr verschiedenen Giften gleiche physiologische Wirkungen auf bestimmte Organsysteme zukommen können.

Schließlich möchten wir noch erwähnen, daß es uns, ähnlich wie Mioni bei Hunden, auch an Meerschweinchen gelang, durch präventive peritoneale Injektion primär toxischer Sera deutliche Antianaphylaxie gegen die nach 24 Stunden ausgeführte intravenöse Reinjektion zu erzielen.

Experimenteller Teil.

Die vorstehenden Bemerkungen mögen das Verständnis der im folgenden mitgeteilten Experimente erleichtern, in welchen die Giftwirkung verschiedener Normal- und Immunsera auf Meerschweinchen einer serologischen Analyse unterzogen wird. Dabei sollen auch die einschlägigen Arbeiten anderer Autoren (Uhlenhuth, Friedberger, Hartoch u. a.) noch etwas eingehender berücksichtigt werden.

A. Normalsera.

I. Rinderserum.

Wir haben schon an anderer Stelle die toxische Wirkung aktiven Rinderserums auf Meerschweinchen, wie sie Uhlenhuth zuerst beschrieben, als ein anaphylaktisches Phänomen bezeichnet.

Zu dieser Auffassung leitete uns zunächst die Ähnlichkeit hin, welche die nach endovenöser Injektion von Rinderserum auftretenden akuten Symptome mit den Erscheinungen der Eiweißanaphylaxie beim Meerschweinchen darbieten. In dieser Hinsicht können wir ergänzend bemerken, daß die von Auer und Lewis, sowie von Biedl und Kraus als charakteristisch bezeichnete Form der anaphylaktischen Dyspnoe auch nach Rinderserum in allen Einzelheiten wohl ausgeprägt ist, und daß die Autopsie der verendeten Tiere dieselbe Blähung und Starre der Lungen, die oft den Herzbeutel völlig verdecken, erkennen läßt.

Mehr als diese rein äußerliche Analogie fiel der Komplementschwund ins Gewicht, der sich bei allen mit giftigem Rinderserum injizierten Meerschweinchen nachweisen ließ und oft hohe Grade erreichte. So erhielten z. B. zwei Meerschweinchen je 2,0 ccm Rinderserum intravenös und verendeten nach 7 Minuten unter stärkster Dyspnoe und terminalem Austritt von blutigem Schaum aus den Nüstern. Der Komplementgehalt des Serums vor der Injektion und unmittelbar nach dem Exitus wurde, wie in allen folgenden Versuchen, derart bestimmt, daß zur doppelt lösenden Dosis Ambozeptor in 2 ccm NaCl ein Tropfen gewaschener, konzentrierter Hammelerythrocytensuspension und nach erfolgter

Bindung fallende Mengen des zu untersuchenden Serums hinzugefügt wurden. Nach 20 Minuten Reaktionszeit wurde abgelesen und bedeutet +++ komplette, ++ fast komplette, + Spur Hämolyse.

Komplementtitration.					
M. I			M. II		
	vor der Injektion	nach	vor der Injektion	nach	
1,0	—	+++	—	+	
0,5	—	+++	—	+	
0,1	+++	++	+++	θ	
0,08	+++	+	+++	θ	
0,05	+++	+	+++	θ	
0,03	+++	θ	+	θ	
0,01	+	θ	+	θ	
0,008	θ	θ	θ	θ	

Diese Komplementverarmung sprach eindeutig für einen komplexen Vorgang, genauer ausgedrückt für eine Reaktion zwischen Eiweißantigen, Ambozeptor und Komplement, womit nach Friedemann, Friedberger sowie Doerr alle Prämissen für die Bildung eines anaphylaktischen Giftes erfüllt erscheinen. Den Komplementschwund als einen bloß akzidentellen Prozeß aufzufassen, ist schon deshalb nicht zulässig, weil andere hämolytische und akut wirkende Gifte, wie das Saponin, das uns noch in einem anderen Zusammenhange beschäftigen wird, den Komplementtiter des Serums nicht zu alterieren vermögen. Ein Meerschweinchen erhielt z. B. 0,005 g Saponin iv., verendete nach 4 Minuten und zeigte folgende Komplementverhältnisse:

	vor der Injektion	nach ¹⁾
0,5	—	+++
0,3	—	+++
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,01	θ	θ
0,008	θ	θ

Die Existenz eines cytotoxischen Ambozeptors im aktiven Rinderserum für Meerschweinchenzellen ist eine längst be-

1) Das Serum allein löste auch in großen Dosen nicht, was in Kontrollversuchen wegen des Saponingehaltes festgestellt wurde.

kannte Tatsache. Seine Anwesenheit verrät sich durch die lytische Wirkung auf die Erythrocyten in vitro, durch die Nekrose bei subkutaner Injektion (Uhlenhuth, Pfeiffer) und durch die Intoxikationsphänomene nach endovenöser oder intraperitonealer Einspritzung (Uhlenhuth und Haendel). In allen diesen Fällen mußte es sich um wirkliche Ambozeptoren handeln, da die Effekte nach Zerstörung des Komplementes durch Erwärmen oder langes Lagern nicht zustande kamen, und da es wenigstens für die hämolytischen und nekrotisierenden Fähigkeiten geglückt war, das inaktivierte Serum durch Pferdekompement wieder zu reaktivieren (Uhlenhuth und Haendel). Es entsteht nur die Frage, ob man für jede der drei Wirkungen einen besonderen Ambozeptor annehmen soll, oder ob man nach den bestehenden Erfahrungen mit einem einheitlichen normalen Antikörper das Auslangen finden kann. Wir neigen der letzteren Auffassung zu, schon aus dem Grunde, weil verschiedene Wirkungen unter differenten Bedingungen noch nicht ohne weiteres den Schluß auf verschiedene Ursachen gestatten (Bordet). Uhlenhuth und Haendel dagegen trennen die hämolytische von der nekrotisierenden und beide von der toxischen Komponente des Rinderserums völlig ab. Sie motivieren ihr Vorgehen vor allem damit, daß durch Erwärmen inaktiviertes Rinderserum toxisch bleibt bei völliger Einbuße der hämolytischen Funktion. Wir konnten aber beobachten, daß inaktives, toxisches Rinderserum (1 Stunde bei 56° C, ja 1 Stunde bei 58° C) Meerschweinchenerythrocyten noch löste, wenn man Meerschweinchenkomplement zusetzte.

Versuch.

1) Das aktive Rinderserum wirkte in vitro auf Meerschweinchenerythrocyten (1 Tropfen in 2,0 Serumverdünnung) wie folgt:

0,5	Rinderserum	+++
0,3	"	+++
0,1	"	+++
0,06	"	+++
0,04	"	+
0,02	"	0

Bei endovenöser Injektion war 1,0 ccm akut toxisch.

2) Inaktives Serum (1^a bei 56° C).

Hämolyse ohne Komplement gleich \emptyset , mit 0,2 Meersch.-Komplement:

0,5	+++
0,3	+++
0,1	+

Kontrollen: 1,0 inaktives Ser. \emptyset
0,2 Komplement \emptyset

Toxizität: M. III 1,5 ccm iv. \emptyset
„ IV 2,0 „ „ in 5' †, Lungenödem

3) Inaktives Serum (1^a bei 58° C).

Hämolyse ohne Komplement \emptyset , mit 0,2 Meersch.-Komplement:

0,5	+++
0,3	+++
0,1	+

Toxizität: M. V 2,5 ccm iv., zeigt leichte Erscheinungen, nach 2^h intensive Hämoglobinurie.

4) Inaktives Serum (1^a bei 60° C).

Hämolyse ohne Komplement \emptyset , mit 0,2 Meersch.-Komplement:

1,0	+
0,5	\emptyset
0,3	\emptyset

Toxizität: M. VI 3,0 ccm \emptyset
„ VII 5,0 „ \emptyset

Es zeigt sich also, daß die inaktiven aber noch toxischen Sera in vitro lösen, und zwar nach Zusatz von Meer-schweinchenkomplement, und daß Temperaturen, die das lytische Vermögen vernichten, auch die Giftigkeit aufheben. Daß übrigens die inaktiven, aber toxischen Sera zum mindesten im Organismus ergiebige Lyse der Erythrocyten verursachen, zeigt eine längere Beobachtung der mit subletalen Dosen injizierten Tiere; sie bekommen meist eine intensive Hämoglobinurie. Allerdings besteht kein zahlenmäßiges Verhältnis zwischen der Abnahme der Toxizität und der Reduktion der hämolytischen Funktion durch Erwärmen, indem letztere viel stärker vermindert erscheint. Doch spricht das nicht gegen die einheitliche Konzeption eines cytotoxischen Ambozeptors, teils aus den Gründen, die wir bereits angeführt, teils weil zu bedenken ist, daß man in vitro andere Mengenverhältnisse, speziell auch von Komplement, zur Reaktion bringt als in vivo.

Es ist uns auch einmal gelungen, bei einem bei 56° C inaktivierten Rinder Serum nicht nur die hämolytische, sondern auch die toxische Wirkung durch frisches Pferdeserum zu

reaktivieren. Wurde das Rinderserum auf 58—60° C 1 Stunde erwärmt, so hatte Pferdekompement nach keiner von beiden Richtungen einen Einfluß:

Versuch.

1) Aktives Rinderserum.

Hämolyse: 0,5	+++
0,3	+++
0,1	++
0,08	+
0,05	0

Toxizität: Meersch. VIII 1,0 iv. † in 4'.

2) Inaktives Rinderserum (1^a bei 56° C).

Ohne Pferdekompement keine Lyse, mit 0,5 Pferdekompement:

0,5	+++
0,3	++
0,1	+
0,08	0
0,05	0

Toxizität ohne Pferdekompement: M. IX 1,0 iv., deutl. Sympt., überlebt.

Toxizität mit Pferdekompement: M. XI 1,0 inakt. S. + 1,0 Pferdes.,
X. 1,0 † in 3' Lungenödem.

3) Inaktives Serum (1^a bei 58 oder 60° C) zeigt allein oder mit Pferdekompement keine Lyse; ebensowenig verstärkt Pferdekompement die bei 58° C schwache, bei 60° fehlende Giftigkeit.

Auch andere Agentien wirken auf die hämolytischen und giftigen Eigenschaften ziemlich gleichsinnig ein. Fällt man frisches Rinderserum mit Alkohol, und löst den Niederschlag, bevor er in die irreversible Phase eingetreten ist, in NaCl auf, so sind beide Funktionen verschwunden. Das ist natürlich ein beträchtlicher Eingriff. Fällt man aber mit gasförmiger Co₂, so sind die ausfallenden Globuline nach Auflösung in isotonischer Flüssigkeit, gleichfalls in jeder Richtung unwirksam. Wir haben endlich frisches, toxisches und hämolytisches Rinderserum 12—24 Stunden gegen fließendes Leitungswasser durch sterile Amnionhaut (nach van Calcar) dialysiert, die ausgefallenen Globuline von der überstehenden Albuminlösung auf der Zentrifuge getrennt und beide (nach dem Besalzen) gesondert und im ursprünglichen Mischungsverhältnis gemengt, untersucht. Stets war Hämolyse und Toxizität verloren, selbst bei Anwendung größter Mengen. Wir behalten uns vor, diesem Verhalten toxischer Normal- (und Immun-)Sera bei der Dialyse noch genauer nachzugehen.

Zusammenfassend läßt sich daher sagen, daß die Wirkungen des aktiven Rinderserums *in vitro* und *in vivo* auf der Aktion eines identischen Ambozeptors beruhen, der aus den angegriffenen Zellen im Verein mit Komplement ein Gift freimacht, das bei endovenöser Applikation akut tötet. Das ist eben eine Paraphrase des nunmehr fast allseits akzeptierten Anaphylaxiebegriffes. Die Annahme eines primären Toxins im Rinderserum, welches im hohen Grade thermolabil sein müßte, hat wenig für sich, da es bisher nicht gelungen ist, durch Immunisierung mit aktivem oder inaktivem Rinderserum Antitoxine zu erzeugen (Uhlenhuth und Haendel); geringgradige Schutzwirkungen eines solchen Antirinderserums könnten übrigens auch auf Antiambozeptoren oder Antikomplementen beruhen.

II. Aalserum.

Beim Aalserum liegen die Verhältnisse insofern komplizierter, als hier Antitoxine, deren Neutralisationsvermögen dem Gesetze der Multipla folgt, bekannt sind, und es nicht angeht, dieselben ohne weiteres als Antiambozeptoren zu deuten. Auch ist die Ambozeptornatur des cytotoxischen Faktors nicht über alle Zweifel sichergestellt, da eine Reaktivierung des inaktiven Aalserums bisher weder *in vitro* noch *in vivo* gelungen ist. Wir können daher hier nur auf einige Analogien mit dem Rinderserum verweisen, so auf das Verschwinden der Giftigkeit nach dem Inaktivieren und die interessante Tatsache, daß weder aktives noch inaktives Aalserum Komplementschwund im Tiere erzeugt, konform der Unmöglichkeit, durch Meerschweinchenkomplement die hämolytische Funktion des inaktiven Aalserums zu verstärken, da offenbar Säugerkomplement mit dem hypothetischen Aalambozeptor gar nicht reagiert. Ferner möchten wir hervorheben, daß die Auer-Lewissche Form der Dyspnoe und der von Biedl und Kraus beschriebene Sektionsbefund der Lungenstarre stets ausgeprägt waren, und daß dementsprechend präventive Atropininjektionen einen deutlich schützenden Einfluß hatten. Wie vorsichtig man übrigens speziell bei der Bewertung der Lungenstarre sein muß, zeigten Versuche, in welchen durch Saponininjektion dasselbe Symptom in deutlichster Ausbildung

erzielt werden konnte; hier fehlte aber jede Aenderung des Komplementtiters sowie der antagonistische Einfluß des Atropins.

Versuche.

Toxizität des nativen Aalserums:

M. XII 0,015 cem iv. † in 3'
 „ XIII 0,02 „ „ † „ 2'

Verhalten des Komplementes:

	XII		XIII	
	vor der Injektion	nach	vor der Injektion	nach
0,1	+++	+++	+++	+++
0,08	+++	+++	+++	+++
0,05	+++	+++	+++	+++
0,03	+++	+++	+++	+++
0,01	θ	θ	θ	θ
0,008	θ	θ	θ	θ

Atropinversuche (das Atropin 0,005 g wurde in die linke Vena jugularis, und $\frac{1}{2}$ —1' darauf das Aalserum in die rechte Vena jugularis injiziert):

Kontrollen

- 1) M. erhält 0,01 Aalserum iv., schwere Symptome, hochgradige Dyspnoe, tot über Nacht
- 2) M. erhält 0,015 Aalserum iv., momentan Krämpfe, Dyspnoe, † 2'
- 3) M. erhält 0,02 iv., blitzartig tot

Atropintiere

- 1) 0,005 Atropin, darauf 0,01 Aalserum, keine unmittelbaren Erscheinungen, keine Dyspnoe, † nach 36^b
- 2 a) 0,005 Atropin, darauf 0,015 Aalserum, andauernd Krämpfe, † nach 2^b 22'
- 2 b) 0,005 Atropin, darauf 0,015 Aalserum, leichte Krämpfe, erholt sich bald, nach 20' schwerste Krämpfe, nach 40' †
- 3) 0,005 Atropin, darauf 0,02 Aalserum, unmittelbar nachher Schwanken, leichte Krämpfe, nach 15' plötzlich schwerste Krämpfe, nach 2^b 15' †

Saponinversuche:

M. X erhält 0,001 Saponin iv., somnolent, † nach 30', deutliche Lungenstarre
 M. XI „ 0,005 „ „ † 4', stark entwickelte Lungenstarre
 M. XII „ 0,01 „ „ † 2', derselbe Befund

Komplementtitration.

	XI	
	vor	nach
0,5	—	+++
0,3	—	+++
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,01	θ	θ
0,008	θ	θ

B. Immunsera.

In erster Linie sollen die für Meerschweinchen spezifischen Immunsera Erörterung finden, ein Meerschweinchenpräzipitin und ein Meerschweinchenhämolsin, sodann die nach Friedberger gleichfalls toxischen Antihammelsera. Die Versuche mit Pferde- und Rinderpräzipitinen, sowie den korrespondierenden Hämolsinen gaben stets negative Resultate, trotz der verschiedensten Zeitintervalle, in welchen, von der letzten immunisierenden Injektion an gerechnet, die Aderlässe gemacht wurden. Nie waren solche Immunsera toxisch, ein Verhalten, welches wir vorläufig nicht zu erklären vermögen.

I. Meerschweinchenpräzipitin.

Es wurde erhalten durch systematische Immunisierung des Kaninchens 422 mit reinem Meerschweinchen Serum, präzipitierte letzteres noch in Verdünnungen von 1:1600, wirkte aber auf Meerschweinchenerythrocyten nicht stärker hämolytisch als normales Kaninchenserum. Es war für Meerschweinchen bei endovenöser Injektion ziemlich toxisch und rief hochgradige Komplementverarmung im Blute der Versuchstiere hervor.

Versuch.

M. I	2,0 S.	422 iv.	† nach 2'
„ II	1,0 „	422 „	nach 2' schwerste Symptome, erholt sich
„ III	0,5 „	422 „	Dyspnoe, leichte Symptome

Komplementtitration.

	I		II		III	
	vor	nach	vor der Injektion	nach	vor	nach
1,0	—	++	—	+++	—	+++
0,5	—	+	—	++	—	++
0,3	—	⊖	—	++	—	++
0,1	+++	⊖	+++	+	+++	+
0,08	+++	⊖	+++	⊖	+++	+
0,05	+++	⊖	+++	⊖	+++	⊖
0,03	+++	⊖	+++	⊖	+++	⊖
0,01	+++	⊖	+++	⊖	+++	⊖
0,008	+++	⊖	++	⊖	+++	⊖

Dem Gesagten zufolge kann hier die Giftigkeit des Serums nicht mit seiner minimalen, von der Norm kaum abweichenden hämolytischen Kraft in Konnex gebracht, sondern nur so erklärt werden, daß der darin enthaltene Antikörper (Präzipitin)

im Eiweiß der injizierten Tiere das passende Antigen vorfand und unter Intervention des Komplementes zur Bildung von Anaphylatoxin Veranlassung gab. Dafür spricht auch die Wahrnehmung, daß nach intraperitonealer Vorbehandlung mit Serum 422 Meerschweinchen eine deutlich erhöhte Resistenz (Antianaphylaxie) gegen die 24 Stunden später erfolgende intravenöse Injektion akut tödlicher Dosen erkennen ließen; sie gingen nicht ein, die Symptome waren relativ leicht und sehr verzögert.

Versuch.

M. IV 2,0 Serum 422 iv. † nach 2'
 „ V 2,0 „ 422 ip., nach 24^h 2,0 Ser. 422 iv. verzögerte deutliche Sym-
 ptome, erholt sich
 „ VI dasselbe wie V mit dem gleichen Resultat.

Komplementtitration.

	IV		V	
	vor	nach der zweiten Injektion	vor	nach
0,5	—	—	—	⊖
0,4	—	—	—	⊖
0,1	+++	⊖	+++	⊖
0,08	+++	⊖	+++	⊖
0,05	+++	⊖	+++	⊖
0,03	+++	⊖	+++	⊖
0,01	+	⊖	+	⊖
0,008	⊖	⊖	+	⊖

Diese Ergebnisse stehen in Uebereinstimmung mit Experimenten von Uhlenhuth und Haendel, welche Meerschweinchen durch intracardiale Einspritzung hochwertiger Meerschweinchenpräzipitine akut zu töten vermochten und auch konstatierten, daß mit Präzipitin vorbehandelte und nach 24 Stunden mit demselben Immunserum reinjizierte Tiere keine so ausgesprochenen Krankheitserscheinungen darbieten, wie unvorbehandelte Kontrollen.

II. Meerschweinchenhämolyse.

Kaninchen No. 430 erhielt am 24., 28. II. und am 3. III. je 2,0 ccm fünfmal gewaschene Meerschweinchenerythrocyten endovenös. Am 10. III. erfolgte der Aderlaß.

Das aktive Serum löste entsprechend seinem zu niedrigen Komplementgehalt nur wenig, die kleinen Dosen ergaben bloß Hämagglutination. Mit 0,05 Meerschweinchenkomplement war

eine Reaktivierung der lytischen Funktion unmöglich, wohl aber mit 0,3 frischen Kaninchenserums. Darüber geben folgende Tabellen Aufschluß.

Hämolytische und hämagglutinierende Fähigkeiten von Serum 430:

	a) aktiv	b) inaktiv + 0,05 Meersch.-Kompl.	c) inaktiv + 0,3 Kanin.-Kompl.
0,5	+++	kompl. Aggl.	+++
0,3	++	dgl.	+++
0,1	+	"	+++
0,08	kompl. Aggl.	"	+++
0,05	dgl.	"	+++
0,03	"	"	+++
0,01	"	"	+++
0,008	"	"	+++
0,005	"	"	+++
0,003	"	"	+++
0,001	0	0	++
0,0008	0	0	+

Es ist aber natürlich, daß auch bei der Verwendung von Meerschweinchenkomplement trotz Ausbleiben der Lyse und bloßer Agglutination Verbrauch des Komplementes resp. Bindung eintrat, da die überstehenden, von den konglobierten Erythrocyten abgegossenen Flüssigkeiten sich überall dort als komplementfrei erwiesen, wo in vitro Agglutination aufgetreten war.

Bei der Prüfung auf Toxizität ergaben sich zwischen aktivem und inaktivem Serum keine Unterschiede in der Giftigkeit; wohl aber blieb nach aktivem Serum jeder Komplementschwund aus, während er nach inaktivem beträchtliche Grade erlangte. Das sei durch folgendes Experiment illustriert:

M. I erhält 1,0 aktives Serum 430 iv. nach 5' schwerste Symptome,
agonal, nach 8' entblutet
" II " 0,5 " 430 " † nach 5'
" III " 1,0 inaktiv. " 430 " † nach 7'

Komplementtitration.

	I		II		III	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach
			der	Injektion		
0,5	—	+++	—	+++	—	0
0,3	—	+++	—	+++	—	0
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,08	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,03	+++	+++	+++	+++	+++	0
0,01	+++	++	+++	++	+++	0
0,008	+	+	0	0	++	0
					16*	

Das inaktive Serum vermag also Blutzellen in vitro nicht zu lösen, solange nur Meerschweinchenkomplement zur Disposition steht; im Körper der Meerschweinchen macht es aber trotzdem das anaphylaktische Gift aus den Erythrocyten frei, ein weiterer Beweis, daß die Anaphylatoxinbildung von der Hämolyse als solcher unabhängig ist, wenn auch ein und derselbe Ambozeptor beiderlei Prozesse vermittelt (Friedemann, Friedberger). Die Tatsache, daß nur das inaktive Hämolysin Komplementverarmung hervorrief, das aktive nicht, findet eine befriedigende Erklärung in der Annahme, daß das in letzterem vorhandene Kaninchenkomplement zum homologen Ambozeptor höhere Avidität hat und auch ausreicht, um die Giftbildung zu gestatten; dadurch wird ein Verbrauch von Meerschweinchenkomplement einerseits unmöglich, andererseits auch überflüssig.

Sämtliche unter der Einwirkung von Serum 430 verendete Tiere zeigten deutliche Lungenstarre und vermochte die präventive Atropininjektion eine geringe, aber evidente Schutzwirkung zu erzeugen.

Versuch.

M. VI erhält 1,0 Serum 430 inakt. iv., schwerste Symptome, † 10'.
 „ VII „ 0,005 Atropin. sulfuric. iv., hierauf 1,0 Serum 430 inaktiv,
 hat leichtere Symptome wie VI und stirbt protrahiert
 nach einer halben Stunde.

Die Komplementtitration ergab auch bei diesen Tieren einen völligen Schwund des Komplementes als Folge der Injektion inaktiven Meerschweinchenhämolysins:

	VI		VII	
	vor	nach	vor	nach
	der Injektion	der Injektion	der Injektion	der Injektion
0,5	—	⊖	—	⊖
0,3	+++	⊖	+++	⊖
0,1	+++	⊖	+++	⊖
0,08	+++	⊖	+++	⊖
0,05	+++	⊖	+++	⊖
0,03	+++	⊖	+++	⊖
0,01	+	⊖	+	⊖
0,008	⊖	⊖	⊖	⊖

Aehnlich wie Friedberger durch Adsorption mit homologen Erythrocyten den Hammelhämolysinen ihre primäre Giftigkeit nehmen konnte, vermochten auch wir durch Behandlung mit Meerschweinchenerythrocyten die Toxizität des Serums

430 zu reduzieren, wobei sich der hämagglutinierende (hämolytische) Ambozeptor bei titrativer Bestimmung als stark vermindert erwies. Der aus dem Serum geschwundene Giftanteil fand sich im Erythrozytensediment wieder.

Versuch

4,0 Serum 430 (inaktiv) wurden mit 1,0 gewaschenen Meerschweinchenerythrocyten durch 1^h bei 37° C der Absorption überlassen und hierauf zentrifugiert:

- M. VIII erhält 1,0 des Abgusses iv., nach 10' erst somnolent, nach 18' Krämpfe, † protrahiert in $\frac{1}{2}$ h.
 „ IX erhält 0,5 des Abgusses, zeigt keine unmittelbaren Erscheinungen, † über Nacht.
 „ X erhält die Hälfte des Erythrocytensedimentes in NaCl suspendiert iv., andauernd somnolent, † über Nacht.
 „ XI erhält die andere Hälfte in 1,0 Aq. dest. gelöst und mit NaCl auf 2,0 aufgefüllt, reagiert wie X.

Hierzu als Kontrollen:

- M. XII erhält 0,5 S. 430 inakt. iv. † 5'.
 „ XIII „ 0,5 „ 430 „ „ † 4'.

Der agglutinierende Titer des adsorbierten und des nicht adsorbierten Serums verhielten sich wie folgt:

	Adsorb. Serum 430	Nicht adsorb. Serum 430
0,05	komplette Agglutination	komplette Agglutination
0,03	„ „	„ „
0,01	Spur	„ „
0,008	θ	„ „
0,005	θ	„ „
0,003	θ	„ „
0,001	θ	θ

Serum 430 hatte endlich sowohl im aktiven wie inaktiven Zustand bei subkutaner Anwendung **nekrotisierende Wirkungen**. Als Beweis mögen folgende Beispiele dienen:

- M. XIV erhält 1,0 S. 430 (inakt.) subkutan unter die Bauchhaut, nach 24^h deutliches Infiltrat, nach 4 Tagen zirkumskripte Nekrose.
 „ XV zeigt nach 0,5 S. 430 subkutan denselben Effekt.

III. Hammelpräzipitine.

Die Prüfungsart dieser Sera wurde insofern erweitert, als außer Hammelserum und Hammelerythrocyten (homologem Antigen) auch Meerschweinchenserum und -erythrocyten in vitro zur Reaktion gebracht wurden, um etwaige Verwandtschaftsreaktionen im Sinne von Hartoch in Erscheinung treten zu lassen. Wie aber gleich vorweggenommen werden mag, fand eine Hämolyse von Meerschweinchenerythrocyten

nicht statt, Meerschweinchenserum reagierte insofern mit Hammelpräzipitin, als bei Anstellung der Schichtprobe nach längerer Zeit das Auftreten eines Trübungsringes zu beobachten war, was für die hochgradige Toxizität der Sera jedoch sicherlich nicht in Betracht kommt.

Versuche.

Serum 482 stammte von einem 3mal (am 13., 16. und 19. III.) mit je 2,0 ccm Hammelserum immunisierten Kaninchen. Am 25. III. Aderlaß.
— Das Serum präzipitierte Hammelserum mäßig stark:

Verdünnung

1: 50	++
1: 100	++
1: 200	++
1: 400	++
1: 800	++
1: 1600	θ

Die hämolytische Wirkung für Hammelerythrocyten war gering:

0,5	S. 482	inakt.	+	0,05	Hammelerythroc.	+	0,05	Kompl.	+++
0,3	„ 482	„	+	0,05	„	+	0,05	„	+++
0,1	„ 482	„	+	0,05	• „	+	0,05	„	+
00,5	„ 482	„	+	0,05	„	+	0,05	„	θ

Meerschweinchenercythrocyten wurden nicht gelöst; mit Meerschweinchenserum gemischt gab das Präzipitin in keinem Verhältnis Trübungen oder Niederschläge, nur bei Ueberschichtung entwickelte sich nach 30' ein Trübungsring.

Die Toxizität von 482 war mäßig stark:

M. I	bekam	2,0	S. 482	iv.	† in 3'
„ II	„	1,0	„ 482	„	schwere Symptome, † in 12'
„ III	„	0,5	„ 482	„	deutliche Symptome, erholt sich

Der Komplementiter sank bei I und II ab:

Komplementtitration.

	vor der Injektion	nach der Injektion	vor der Injektion	nach der Injektion
0,1	+++	+++	+++	+++
0,08	+++	+++	+++	++
0,05	+++	+++	+++	+
0,03	+++	+++	+++	θ
0,01	+	θ	+++	θ
0,008	θ	θ	++	θ

Bei einem zweiten, ganz gleichartig und gleichzeitig behandelten Kaninchen wurden in verschiedenen Abständen von der letzten immunisierenden Injektion (19. III.) Aderlässe gemacht, und zwar der erste am 6., der zweite am 8. Tage. Dann blieb das Tier eine Zeitlang in Ruhe, wurde am 8. IV. neuerlich mit 1,0 Hammelserum injiziert und nach 6 Tagen entblutet (3. Aderlaß).

Es war mir von Interesse, speziell die Sera des 1. und 3. Aderlasses miteinander zu vergleichen. Sie wirkten auf Hammelerythrocyten gleich stark lytisch (Titer 0,1), und waren für Meerschweinchen und Erythrocyten derselben Provenienz inaktiv. Dagegen bestanden, wie die folgende Auswertung lehrt, erhebliche Differenzen im Präzipitationsvermögen für Hammelserum:

Verdünnung	1. Aderl.	3. Aderl.
1: 50	+++	+++
1: 100	+++	+++
1: 200	+++	+++
1: 400	+++	+++
1: 800	+++	+++
1: 1600	++	+++
1: 3200	+	+++
1: 6400	0	+++
1: 12800	0	+++
1: 25600	0	+++
1: 51200	0	+++

Die Auswertung der Toxizität ergab:

	1. Aderl.	3. Aderl.
2,0 iv. M. IV, † in 1'		M. VII † in 3'
1,5 „ „ V, † „ 3'		„ VIII † in 5'
1,0 „ „ VI, leichte Sympt., nach 15' entblutet		„ IX † „ 25'

Soweit diese leider etwas unvollständige Bestimmung einen Schluß zuläßt, war das Serum vom 3. Aderlaß, das stärker präzipitierte, tatsächlich auch stärker toxisch; erheblich war die Differenz keinesfalls. Das Verhalten des Komplementes bei obigen Tieren geben nachstehende Daten wieder:

Komplementtitrationen.

	IV		V		VI	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,08	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,05	+++	+++	+++	+	+++	+++
0,02	+++	+++	+++	0	+++	+++
0,01	++	0	+++	0	+++	0
5,008	+	0	+	0	0	0

Komplementtitrationen.

	VII		VIII		IX	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach
1,0	—	+++	—	+++	—	+++
0,5	—	+++	—	+++	—	+++
0,3	—	+++	—	+++	—	+++
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6,08	+++	+	+++	+++	+++	++
0,05	+++	+	+++	++	+++	+
0,03	+++	0	+++	+	+++	0
0,01	+	0	+++	0	0	0
0,008	0	0	++	0	0	0

Die Giftigkeit wurde durch präventive Atropininjektion aufgehoben, wenn die eingespritzte Menge Hammelpräzipitin nicht mehr als die sichere Dosis latelis betrug. Bei höheren Mengen Immuneserum beschränkte sich die Atropinwirkung auf eine Verzögerung des letalen Ausgangs.

Versuch.

M. X erhält 0,005 Atropin iv., nach $\frac{1}{2}$ 0,5 S. 416 iv. **keine Erscheinungen**
 „ XI „ 0,005 „ „ „ $\frac{1}{2}$ 1,0 „ 416 „ **Tod in 8'**

Kontrollen:

M. XII erhält 0,5 S. 416 iv. † in 5'
 „ XIII „ 0,5 „ 416 „ † „ 4'

Komplementtitration.

	XII	
	vor	nach
	der Injektion	
0,3	+++	++
0,1	+++	0
0,08	+++	0
0,05	+++	0
0,03	+++	0
0,01	+++	0
0,008	0	0

Das Ergebnis der Hammelpräzipitinversuche kann dahin zusammengefaßt werden:

1) In Uebereinstimmung mit Friedberger und Hartoch sahen wir eine hochgradige Giftwirkung auf Meerschweinchen nach einmaliger intravenöser Injektion.

2) Aus den Versuchen ergeben sich keine Anhaltspunkte dafür, die Toxizität im Sinne von Hartoch auf eine übergreifende Präzipitinreaktion zurückzuführen.

3) Regelmäßiger Komplementschwund als Folge der toxischen Einspritzungen (Friedberger und Hartoch).

4) Eine deutliche Schutzwirkung präventiver Atropininjektionen.

IV. Hammelhämolyse.

Die im folgenden mitgeteilten Experimente bewegen sich ganz im Rahmen des beim Meerschweinchenhämolyse skizzierten Versuchsplanes mit der Abweichung, daß wir bei der Auswertung der Sera auf die Möglichkeit einer eventuellen Verwandtschaftsreaktion (mit Meerschweinchenserum resp. Erythrocyten) besondere Rücksicht nahmen.

Versuche.

Kaninchen 403 erhält am 5., 8. und 11. II. je 2,0 gewaschene Hammelerythrocyten intravenös und wird am 23. II. entblutet. Sein Serum löste Meerschweinchenerythrocyten nicht, hatte keine präzipitierende Wirkung für Meerschweinchenserum, war aber stark lytisch für Hammelerythrocyten.

0,01	+++
0,008	+++
0,005	+++
0,003	+++
0,001	+++
0,0008	+++
0,0005	+++
0,0003	+
0,0001	0

M. I erhielt 2,0 des aktiven Serums 403 iv., + 2'.

Der Komplementgehalt erfuhr hierbei keine Änderung.

	Komplementtitration	
	vor der Injektion	nach
0,5	—	+++
0,3	—	+++
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,01	++	++
0,008	+	+

Kaninchen 415, in analoger Weise immunisiert wie Kan. 403, lieferte ein Serum, welches, abgesehen von einem bei der Schichtprobe mit Meerschweinchenserum auftretenden Trübungering, dieselben Eigenschaften in vitro zeigte. Sein hämolytischer Titer war annähernd der gleiche:

0,01	+++
0,008	+++
0,005	+++
0,003	+++
0,001	+++
0,0008	+++
0,0005	+++
0,0003	+
0,0001	0

Die genauere Bestimmung der Wirkungsgrenze endovenöser Injektionen verlief wie folgt:

M. I	erhält 2,0	S. 415 iv. (aktiv)	+	1'
" II	" 1,0	" 415 "	+	5'
" III	" 1,0	" 415 "	+	5'
" IV	" 0,5	" 415 "	+	10'

Auch diesmal waren die Schwankungen des Komplementiters bei allen 4 Tieren gleich Null, oder doch, wie bei I, relativ unbedeutend.

Komplementtitration.								
	I		II		III		IV	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach	vor	nach
0,5	—	+++	—	+++	—	+++	—	+++
0,3	—	+++	—	+++	—	+++	—	+++
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,08	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,03	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01	+++	+	+	+	+	+	+	+
0,008	++	+	+	+	+	+	+	+

Der Versuch, die Ambozeptoreigenschaft der bei der Giftbildung beteiligten Komponente dadurch zu erweisen, daß sich das inaktive Serum mit den homologen (Hammel-)Erythrocyten entgiften ließ resp. das toxische Prinzip an die Erythrocyten abgab, gelang, wie die nachstehenden Protokolle beweisen:

Versuche.

a) 1 ccm des inaktivierten Serums 415, von welchem 0,5 auch inaktiv sicher letal war, wurde mit 0,2 Hammelerythrocyten versetzt, 30' bei 37° C belassen und zentrifugiert.

M. VII erhält den Abguß, zeigt +

„ VIII erhält das Sediment, in 1,0 Aq. dest. gelöst, mit NaCl auf 2,0 aufgefüllt iv., schwerste Symptome, agonal, † in 5^h.

Kontrollen mit gleichen Mengen normaler, analog gelöster Hammelerythrocyten blieben gesund.

b) 2,0 S. 415 inaktiv + 0,2 Hammelerythrocyten, 30' bei 37° C, dann zentrifugiert:

M. X. erhält 1,0 des Abgusses, +

„ XI erhält die Erythrocyten, in Aq. dest. gelöst, mit NaCl auf 2 ccm aufgefüllt, zeigt Symptome.

c) Mit heterologen (Meerschweinchen- oder Pferde-)Erythrocyten ließ sich Hammelhämolysin nicht entgiften, aber nur dann nicht, wenn einmal adsorbiert wurde; setzte man die Prozedur einige Male fort, so verlor das Immunserum doch die Toxizität, die dann in den gesammelten Erythrocyten-sedimenten konzentriert schien. Wir können vorläufig noch nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich bei dieser Bindung des Hammelambozeptors durch heterologe Blutkörperchen um rein mechanische Vorgänge handelt; es ist nur augenscheinlich, daß die Entgiftung in diesem Falle ungleich träger zustande kommt als bei Benutzung des passenden Antigens.

Beispiel für einmalige Adsorption von Hammelhämolysin (Serum 415 inaktiv) durch heterologe Erythrocyten:

2,0 S. 415 inaktiv + 0,2 Meerschweinchenerythr., 30' bei 37° C, dann zentrifugiert. Hiervon bekommt:

M. XII 1,0 des Abgusses iv. † 7'
 „ XIII 0,5 „ „ „ † 15'

Die Giftigkeit hatte also (vide sub b) gar nicht abgenommen.

Beispiel für **wiederholte** Adsorption eines Hammelhämolysins (von Kan. 462 s. w. u.) mit heterologen Erythrocyten:

M. XIV erhält 1,0 S. 462 inaktiv und stirbt in 5'.

Nun werden 2,0 dieses Serums 4mal mit je 0,2 Meerschweinchen-erythrocyten versetzt, jedesmal 30' bei 37° C gelassen und die Sedimente gesammelt.

M. XV erhält 1,0 4mal adsorbiertes Serum, zeigt θ
 „ XVII erhält die Erythrocyten (arteigene!), zeigt schwerste Symptome, wird agonal.

Ebenso gestaltete sich der Verlauf bei 4maliger Adsorption von Serum 462 durch Pferdeerythrocyten:

M. XVI erhält 1,0 adsorbiertes Serum θ
 „ XVIII erhält die gesammelten Pferdeerythrocyten, zeigt schwerste Symptome, Lungen- und Darmblutung und stirbt in 1 $\frac{1}{2}$ h.

Kontrollen mit gleichen Mengen von normalen Pferdeerythrocyten vorbehandelt.

Die Richtigkeit der Annahme, daß der Träger der Giftwirkung im Hammelhämolysin der Ambozeptor ist, ließ sich übrigens nicht nur durch die Adsorption mit geformtem Antigen, sondern auch auf einem anderen Wege erweisen: es mußte gelingen, die Toxizität durch Antiambozeptoren zu neutralisieren. Zu diesem Zwecke wurde zunächst Kaninchen 471 mit Hammelerythrocyten immunisiert. Es lieferte ein Serum vom hämolytischen Titer 0,001. Mit diesem Serum wurde nun ein zweites Kaninchen immunisiert.

Kaninchen 425 erhält am 24., 27. und 30. IV. je 2,0 Serum 471.

Am 6. V. erfolgte der Aderlaß. Es wurde nun zunächst untersucht, ob Serum 425 in vitro hämolysehemmende Stoffe, Antiambozeptoren erkennen ließ, indem zu fallenden Dosen Ambozeptor (Serum 471) je 0,05 Hammelerythrocyten und 0,2 Serum 425 hinzugesetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° C der Bindung überlassen und schließlich durch 0,1 Komplement aktiviert wurde. Es zeigte sich deutlich der hemmende Einfluß von Serum 425.

	Kontrolle	Antihämolysinzusatz
	komplette Hämolyse	komplette Hämolyse
0,1		
0,08	„ „	„ „
0,05	„ „	„ „
0,03	„ „	θ
0,01	„ „	θ
0,008	„ „	θ
0,005	„ „	θ
0,003	deutliche „	θ
0,001	θ	θ

Nun wurde zu 1,5 Serum 462, einem Hammelhämolysin, von dem 1,0 ccm zuverlässig letal war, 2,5 ccm Serum 425 hinzugefügt, über Nacht bei Zimmertemperatur belassen und das Gemisch einem Meerschweinchen endovenös injiziert. Es zeigte keine wie immer gearteten Erscheinungen.

Wie bei den anderen toxischen Normal- und Immunsereen suchten wir den anaphylaktischen Charakter der Intoxikation durch den Nachweis der schützenden Atropinwirkung, der Antianaphylaxie und der lokal nekrotisierenden Fähigkeiten bei subkutaner Anwendung zu stützen. Da diese Versuche keines weiteren Kommentares bedürfen, seien sie hier kurz wiedergegeben.

Versuch.

1) Prüfung der Atropinwirkung.

Kontr.-M. XX erhält 1,0 S. 415 iv. † 3' Lungenödem
 „ XXI „ 0,005 Atrop. iv. und sofort darauf 1,0 S. 415 iv.,
 keine Dyspnoe, leichte Symptome, † nach 3 $\frac{1}{2}$ h

2) Prüfung auf Antianaphylaxie.

M. VI erhält 2,0 S. 471 ip., 24h darauf 1,0 S. 462 iv. †
 „ VII „ 1,0 „ 471 „ 24h „ 1,0 „ 462 „ andauernd dyspnoisch,
 † in 45 Minuten
 „ VIII „ 0,5 „ 471 „ 24h „ 1,0 „ 462 „ † in 13 Minuten
 Kontroll-M. IX erhält 1,0 S. 462 iv. † in 5 Minuten

Die intraperitoneale Vorbehandlung mit dem reinen Hämolysin hatte also eine mit steigender Dosis zunehmende antianaphylaktische Wirkung gegen die Injektion des zweiten hämolytischen Immunsereums.

3) Nekrotisierende Wirkung.

M. XII erhält 1,0 S. 462 subk. unter die Brusthaut: Infiltratbildung mit
 folgender Nekrose
 „ XIII „ 0,5 „ 462 „ „ „ „ leichte Infiltratbildg.

Es ergaben also die Versuche mit Hammelhämolysinen:

1) Hochgradige Toxizität für Meerschweinchen.

2) Keine Anhaltspunkte für eine Wirkung im Sinne von Hartoch.

3) Möglichkeit, die toxische Komponente der Hammelhämolysine durch einmalige Adsorption mit homologen Erythrocyten zu binden, während eine einmalige Adsorption mit heterologen Ery-

throcyten (vom Meerschweinchen) denselben Effekt nicht hatte (Friedberger).

4) Möglichkeit, die giftige Komponente durch wiederholte Adsorption auch mit heterologen Blutkörperchen (Meerschweinchen, Pferd) aus den Seren zu entfernen.

5) Weder durch die heterologe noch die homologe Adsorption findet eine Absättigung der Giftkomponente statt, sie bleibt vielmehr an den Erythrocyten nachweisbar.

6) Deutliche Schutzwirkung präventiver Atropininjektionen.

7) Die bereits von Friedberger beobachtete Möglichkeit einer Antianaphylaxie.

8) Die deutlich antagonistische Wirkung eines „Antihämolytins“ sowohl in vitro wie im Tierversuch.

9) Nekrotisierende Wirkung toxischer Hamelhämolytine.

Zusammenfassung.

1) Die akuten Giftwirkungen bestimmter Normal- und Immunsera auf Meerschweinchen sind als anaphylaktische Reaktionen zu deuten, weil sie durch die Bildung von Anaphylatoxinen aus Eiweißantigenen, Antikörper und Komplement bedingt sind. Auf derselben Grundlage beruht die Wirkung solcher Sera auf andere Tiere und die Erscheinungen nach Transfusion von Tierblut bei Menschen.

2) Toxische Hämolytine lassen sich durch Adsorption mit den empfänglichen Erythrocyten (Friedberger), bei wiederholter Adsorption auch mit heterologen Blutkörperchen unwirksam machen.

3) Die Injektion toxischer Normal- und Immunsera ruft Komplementschwund hervor und wo dieses nicht der Fall ist, wie beim Aalserum,

ist der Ambozeptor durch das disponible Komplement nicht aktivierbar.

4) In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von Mioni, Uhlenhuth und Friedberger ließ sich feststellen, daß nach Ueberstehen der Giftwirkung solcher Sera ein deutlicher Zustand von Antianaphylaxie zurückblieb.

5) Die Symptome nach Injektion toxischer Normalsera sind mit denen des anaphylaktischen Shocks nicht nur äußerlich, sondern ihrem Wesen nach identisch. Bei Meerschweinchen erzeugen diese Sera das Auer-Lewissche Phänomen und können durch Atropinsulfat antagonistisch beeinflusst werden.

6) Nekrotisierende Wirkung und Lungenstarre können vorläufig nicht als ausschließliche Wirkungen des anaphylaktischen Giftes betrachtet werden, da sie auch nach Pepton, Saponin u. dgl. auftreten.

Literatur.

- Auer und Lewis, Journ. of the Americ. Med. Assoc., Vol. 53, 1909, Heft 6, p. 459.
Belfanti und Carbone, Journ. d. la R. Acad. d. Med. di Torino, 1898, No. 8.
Biedl und Kraus, Wien. klin. Wochenschr., 1910.
Cantacuzène, Annal. de l'Institut. Pasteur, 1910.
Delezenne, Compt. rend. de l'Acad. des sciences, 1900.
Doerr und Russ, diese Zeitschr., Bd. 2 u. 3.
— und Moldovan, ebenda, Bd. 5.
Friedberger, ebenda, Bd. 4 und Med. Klinik, 1910, No. 13.
— und Hartoch, ebenda, Bd. 3.
Friedemann, ebenda, Bd. 2 u. 4.
Gruber, Münch. med. Wochenschr., 1901.
Hartoch, Petersburger med. Wochenschr., 1909.
Joannovics, Wien. klin. Wochenschr., 1909, p. 258.
Kraus, Wien. klin. Wochenschr., 1901.
— diese Zeitschr., Bd. 4.
— und Sternberg, Centralbl. f. Bakt. etc., Orig., Bd. 32.
Landois, Lehrb. d. Physiol., 12. Aufl., p. 172.
Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1899, 1900.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiserlichen Institut für experimentelle Medizin zu St. Petersburg. (Abteilungen von A. A. Wladimiroff und E. S. London.)]

Zur Lehre über die toxische Wirkung der Produkte der tryptischen Serumeiweißverdauung im Zusammenhang mit der Lehre von der Anaphylaxie.

Von O. Hartoch und N. Ssirenski.

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Mai 1910.)

Anlässlich ihrer Stoffwechselversuche konnten Friedemann und Isaac (1) zeigen, daß Ziegen, die mit artfremdem Eiweiß vorbehandelt waren, die Fähigkeit erlangten, letzteres bei parenteraler Zufuhr viel schneller und vollständiger abzubauen als normale Tiere.

Diese Beobachtung erklärten sie durch die Annahme, daß der bei der Vorbehandlung entstehende Antieweißkörper Fermentwirkung entfalte und das neu eingeführte Eiweiß derart spalte, daß durch Bildung von intermediären, giftigen Spaltungsprodukten die Erscheinungen der Ueberempfindlichkeit hervorgerufen werden. Auf Grund der quantitativen Bestimmungen des im Anschluß an die Reinjektion ausgeschiedenen N nimmt Friedemann (1a) an, daß das Ferment keinen streng spezifischen Charakter trägt.

Daß die Anaphylaxiesymptome als Vergiftungserscheinungen aufgefaßt werden können, bedingt durch ein aus dem Eiweiß-Antieweißkomplex durch Fermentwirkung freiwerdendes Gift, geht auch aus den interessanten Untersuchungen von Friedemann (2) und von Friedberger (3) hervor.

Friedemann (2) konnte nämlich zeigen, daß durch Behandlung von Erythrocyten mit dem spezifischen Ambozeptor und Komplement Giftstoffe entstehen können, die noch vor dem Beginn der Hämolyse gebildet werden, und die bei Einführung in den Organismus eines unvorbehandelten Tieres Anaphylaxiesymptome hervorrufen.

Friedberger (3) konnte den gleichen Beweis erbringen für die Erscheinungen der Serumanaphylaxie.

Aus seinen Versuchen geht besonders deutlich hervor, daß erst durch Hinzutreten des fermentreichen Meerschweinchenserums die giftige Komponente aus dem Antigen-Antikörperkomplex frei wird¹⁾. Die Versuche von

1) Anmerkung bei der Korrektur. Aus den jüngst veröffentlichten Versuchen von Friedberger und Castelli (Zeitschr. f. Immunitätsf. etc.,

Friedberger sind um so beweisender, als es ihm im Gegensatz zu Friedemann mit großer Regelmäßigkeit gelang, ein Gift zu gewinnen, das nicht nur gewisse anaphylaktische Erscheinungen setzte, sondern den typischen Anaphylaxietod in wenigen Minuten bewirkte.

Eine weitere Beobachtung, die für uns von Interesse ist, sind die Befunde der Abderhaldenschen Schule. Abderhalden und seine Mitarbeiter (4, 5, 6, 7—13) konnten nämlich zeigen, daß unzweifelhaft bei den mit artfremdem Eiweiß behandelten Tieren das Plasma einen höheren Gehalt an peptolytischen Fermenten aufweist resp. Polypeptide rascher spaltet als das Plasma der unvorbehandelten Tiere.

Die diesbezüglichen Versuche richten sich wesentlich auf den Nachweis von Fermenten, die auf die einfacheren Abbaustufen der Eiweißstoffe eingestellt sind. Es liegt aber nach Abderhalden die Vermutung nahe, daß daneben Fermente auftreten, die auch die Abbauprodukte von höherem Molekulargewicht und die Proteine selbst angreifen.

Die im Anschluß an die Vorbehandlung auftretenden Fermente sind, wie aus den Versuchen hervorgeht, nicht spezifisch, da, abgesehen von der zur Vorbehandlung benutzten Eiweißart, auch andere Eiweißarten durch das gleiche Serum abgebaut werden.

Anschließend an diese Beobachtungen wird von Abderhalden und seinen Mitarbeitern die Meinung ausgesprochen, daß durch die abbauende Wirkung der Fermente es bei der Reinjektion sehr wohl zur Anhäufung ganz bestimmter, giftiger, intermediärer Abbauprodukte des Eiweißes im Organismus eines mit Eiweiß vorbehandelten Tieres kommen kann, wodurch die Erscheinungen der Ueberempfindlichkeit ihre Erklärung finden dürften.

Schon seit Jahren vertritt auch Weichhardt (14) diese Ansicht. Weichhardt nimmt an, daß bei wiederholter parenteraler Eiweißzuführung die cytolytischen Antikörper in der Nähe lebenswichtiger Zentren aus dem kolloidalen Eiweiße Peptone und Aminosäure freimachen, die ihrerseits gewisse osmotische Störungen an lebenswichtigen Zentren verursachen und Krampferscheinungen hervorrufen.

Bd. 6, Heft 1) über die Antiserumanaphylaxie geht eindeutig hervor, daß die anaphylaxieauslösende Wirkung von Antisera auf ihren gleichzeitigen Gehalt an Antigen und Antikörper zurückgeführt werden muß. Entsprechend den von Friedberger bereits in seiner III. und IV. Mitteilung erhobenen Befunden ist auch dabei das anaphylaktische Gift nichts anderes als ein giftiges Eiweißabbauprodukt, welches aus dem Antigen und Antikörper unter Einfluß des Komplementes abgespalten wird.

Durch die von Friedberger bei der Antiserumanaphylaxie aufgedeckten Tatsachen ist somit direkt bewiesen, daß die Ueberempfindlichkeit in letzter Linie als ein humoraler Vorgang aufzufassen ist, der als Spezialfall einer parenteralen Eiweißverdauung angesehen werden kann. Eine Auffassung, mit der auch unsere Versuchsergebnisse durchaus im Einklang stehen.

Eine weitere Stütze für die von ihm vertretene Anschauung sieht Weichhardt in dem bei dem anaphylaktischen Shock zu beobachtenden Komplementverbrauch, wie ihn Friedemann (3), Friedberger und Hartoch (15), Sleeswijk (16), Doerr und Russ (17) u. a. sichergestellt haben. Die abweichenden Resultate von Tsuru dürfen wohl, wie auch bereits von anderer Seite (Sleeswijk, Friedberger) hervorgehoben ist, mit gutem Recht auf eine unzulängliche Technik zurückgeführt werden.

Auch das von Abderhalden und seinen Mitarbeitern bewiesene Auftreten von eiweißverdauenden Fermenten im Serum der mit Eiweiß parenteral vorbehandelten Tiere wird von Weichhardt als für seine Auffassung sprechend betrachtet.

In einer ausführlichen Arbeit untersuchten Vaughan und Wheeler (18) die Spaltungsprodukte des Eiweißes bezüglich ihrer Wirkung im Tierexperiment.

Zu diesem Zwecke wurde das betreffende Eiweiß mit Alkohol zur Gerinnung gebracht, getrocknet und zu Pulver verrieben. Das so erhaltene Pulver wurde alsdann im Soxhletapparat mit Aether extrahiert und nach abermaliger Trocknung mit der 15—25-fachen Menge von absolutem Alkohol bearbeitet, in dem 2 Proz. NaOH gelöst waren. Durch eine dreimalige Bearbeitung bei 78° C wird das Eiereiweiß in einen alkohollöslichen giftigen Teil und einen alkoholunlöslichen und zugleich ungiftigen Teil zerlegt.

An der Hand von zahlreichen Tierversuchen und in Uebereinstimmung mit früheren Versuchsergebnissen glauben Vaughan und Wheeler die Ansicht vertreten zu können, daß in allen Proteinen zwei Gruppen vorhanden sind: eine ungiftige alkoholunlösliche — die haptophore Gruppe, und eine alkohollösliche giftige — die toxophore Gruppe.

Erstere, die haptophore Gruppe, sensibilisiert das Versuchstier (die Versuche sind an Meerschweinchen ausgeführt), und zwar nur gegen das entsprechende Voll-Eiweiß, wohingegen bei Reinjektion der haptophoren Gruppe, selbst in größeren Quantitäten keine, toxischen Symptome aufzutreten pflegen. Die sensibilisierenden Fähigkeiten der ungiftigen Eiweißfraktion sind nicht geringer ausgesprochen als die des unbearbeiteten Eiweißes.

Die toxophore Gruppe — ein Protein von unbekannter chemischer Struktur (in wäßriger Lösung gibt es mit Ausnahme der Molischschen Reaktion sämtliche Farbenreaktionen, die für Proteine charakteristisch sind) — ist nach Vaughan und Wheeler durch seine Verwandtschaft zu gewissen chemischen Gruppen der Zelle gekennzeichnet und durch seine ausgesprochene Avidität zum Atemzentrum als Nervengift aufzufassen. Bezüglich der sensibilisierenden Fähigkeit der toxischen Komponente des Eiweißes zeigen die Versuchstabellen, daß dieselbe selbst nach mehrmaligen Injektionen keine Hypersensibilität bedingt.

Die Wirkung der toxophoren Gruppe im Tierversuch ist durch folgende Eigentümlichkeiten charakterisiert: bei intraperitonealer Injektion selbst kleiner Mengen (8—100 mg) treten zunächst periphere Reizerscheinungen auf, es folgt ein paralytisches Stadium (Lähmung der Rumpf- und

Extremitätenmuskulatur), das schließlich in ein vorübergehendes konvulsives Stadium übergeht und zum Tode durch Atemstillstand führt. Der zeitliche Ablauf dieser Erscheinungen ist ein sehr verschiedener und variiert zwischen 5—60 Minuten.

Per os verabreicht bleibt jedoch jegliche Wirkung aus.

Die beschriebenen Erscheinungen erinnern stark an die klassischen Symptome im Anaphylaxieversuch. Auch die Temperaturerniedrigung, die neuerdings als eines der Kardinalsymptome des anaphylaktischen Shocks allseitig anerkannt ist, soll nach Vaughan auch bei den Vergiftungen mit dem toxischen Eiweißspaltungsprodukt beobachtet werden. Merkwürdig ist nur, daß bei intravenöser Injektion der Temperatursturz fehlen soll.

Das Wesen der Sensibilisierung im klassischen Anaphylaxieversuch sehen Vaughan und Wheeler in der Bildung eines spezifischen proteolytischen Fermentes, dessen Entstehen durch die erste (sensibilisierende) Injektion hervorgerufen wird.

Entsprechend der Vorstellung von Friedemann u. a. nehmen Vaughan und Wheeler an, daß das entsprechende Ferment in gewissen Zellen des sensibilisierten Tieres in Zymogenform aufgespeichert ist, und durch die Reinjektion aktiviert wird. Dabei spaltet es das reinjizierte Eiweiß in der Weise, daß das gebildete Spaltungsprodukt seinerseits die den Anaphylaxiesymptomen ähnlichen Vergiftungserscheinungen hervorruft¹⁾.

Vaughan und Wheeler schließen daraus, daß das auf chemischem Wege gewonnene toxische Spaltungsprodukt des Eiweißes identisch sein muß mit dem durch die Spaltung des reinjizierten Eiweißes in vivo erzielten Produkte und daß demzufolge auch der anaphylaktische Shock nichts anderes, als eine Vergiftung durch das im Organismus freiwerdende toxische Prinzip des Eiweißes darstellt.

Analoge Resultate erzielte Vaughan (20) bei Behandlung verschiedener Bakterienarten mit alkalischem, auf 78° erhitzten Alkohol und Nicolle und Abt (21) bei gleicher Behandlung des Pferdeserums.

In einer ausführlichen Arbeit beschäftigten sich Pick und Yamouchi (32) mit der chemischen Natur der bei der Anaphylaxiereaktion beteiligten Körper. Was uns hier besonders interessiert, ist die von ihnen erörterte Frage über die Rolle der Spaltungsprodukte des Eiweißes bei der Anaphylaxie und im speziellen über die Bedeutung der durch Trypsinverdauung gewonnenen Abbauprodukte. Aus ihren Versuchen geht hervor, daß unter Umständen selbst ziemlich weit durch proteolytische Fermente abgebaute Eiweißprodukte zu sensibilisieren imstande sind. Dabei zeigte es sich, daß im Gegensatz zu den durch Pepsinverdauung gewonnenen Abbau-

1) Anmerkung bei der Korrektur. In der kürzlich erschienenen Arbeit von H. Pfeiffer und S. Mita (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, Heft 1) ist der experimentelle Beweis geführt worden, daß Seren von anaphylaktischen Meerschweinchen in der Tat die Fähigkeit erwerben, im Reagenzglas mit dem Antigen gemischt, Spaltprodukte von Peptoncharakter zu liefern.

produkten des Serumeiweißes die tryptischen Spaltungsprodukte nie eine Ueberempfindlichkeit gegen eine Reinjektion ihrer selbst hervorrufen, sondern nur gegen das Volleiweiß. Selbst nach längerer Inkubationszeit bewirkte die Reinjektion von größeren Mengen des tryptisch abgebauten Eiweißverdauungsgemisches keinerlei Symptome. Die Versuche sind angestellt an jungen Kaninchen von 500—700 g Gewicht, wobei die Reinjektion stets intravenös vorgenommen wurde. Aus diesen Versuchen geht, wie uns scheint, hervor, daß, abgesehen davon, daß die betreffenden Verdauungsgemische beim vorbehandelten Tier nicht toxisch wirken, diese Gemische auch an und für sich, d. h. primär für Kaninchen ungiftig sind, da widrigenfalls die Wirkungen der Anaphylaxie und die primäre Toxizität sich summieren würden.

Auch Wells (23) fand, daß mit dem fortschreitenden Abbau des nativen Eiweißes durch die tryptische Verdauung und parallel mit der Abnahme des durch Hitze fällbaren Stickstoffgehaltes in der Volumeinheit, auch das sensibilisierende und das toxische Vermögen des Serums abnehmen.

Wells benutzte zu seinen Versuchen Rinderserum, das er mit dem käuflichen Pankreatin (Parke Davis & Co.) und einer kleinen Menge Na_2CO_3 versetzte und bei $37,5^\circ$ der Verdauung in vitro aussetzte. Die Proben wurden dann nach 10, 21, 59 und 129 Tagen entnommen und im Anaphylaxieversuch am Meerschweinchen untersucht. Abgesehen von den an und für sich interessanten Beobachtungen, daß die durch die tryptische Verdauung in stärkerem oder schwächerem Grade abgebauten Eiweißkörper in geringerem Maße befähigt sind, bei sensibilisierten Tieren (gleichviel ob mit Vollserum oder durch Verdauungsgemisch vorbereitet) Anaphylaxie hervorzurufen, ist für uns von besonderem Interesse, daß die Einführung des abgebauten Eiweißes an und für sich anscheinend keine klinischen Symptome hervorruft. Die Reinjektion (bei der größere Gaben, 5—6 ccm, verabreicht werden) geschah intraperitoneal.

Berücksichtigen wir somit alle eben angeführten Befunde und die daran sich schließenden Schlußfolgerungen der verschiedenen Forscher, so sehen wir, daß durchgreifend die Annahme gemacht wird, daß durch die parenterale Vorbehandlung mit artfremdem Eiweiß Substanzen im Organismus entstehen, die auf diese oder jene Weise mit dem reinjizierten Eiweiß in Reaktion treten. Des weiteren scheinen die bisherigen Untersuchungen dafür zu sprechen, daß es sich bei der Reaktion zwischen dem reinjizierten Eiweiß und den im Organismus gebildeten Substanzen, die wir der üblichen Nomenklatur folgend als Antikörper bezeichnen wollen, um eine Reaktion handelt, die unter Komplementverbrauch vonstatten geht und die daher bis zu einem gewissen Grade als fermentativer

Abbau des eingeführten artfremden Eiweißes aufgefaßt werden kann.

Dieser Prozeß scheint aus den zum Teil für den Organismus ungiftigen Eiweißmolekülen Substanzen freizumachen, die ihrerseits als vergiftungsauslösende Momente in Betracht kommen und die Symptome der Anaphylaxie hervorrufen. Die beweisenden Versuche von Friedberger (in denen es ihm gelang, durch Digerieren größerer Präzipitaten mit komplementreichem Meerschweinchenserum ein lösliches Gift herzustellen — das Anaphylatoxin), stützen diese Auffassung auf das beste. Das sich stets gleichbleibende klinische Bild und die Konstanz sämtlicher in Betracht kommender objektiver Kriterien bei dem Anaphylaxieversuch, gleichviel mit welchem Eiweiß das Versuchstier sensibilisiert worden ist, spricht ferner dafür, daß das Anaphylatoxin — oder mit anderen Worten die *causa chemica efficiens* — entweder stets die gleiche ist, oder wenigstens in toxikologischer Hinsicht sich voneinander nicht wesentlich unterscheidet¹⁾.

War somit die Vermutung bereits mehrfach ausgesprochen worden, daß das anaphylaktische Gift aus der chemischen Reaktion zwischen Eiweißkörper und Antieiweißkörper unter Beteiligung des Komplementes resultiert, so war damit noch keineswegs entschieden, welche von den bei der Reaktion beteiligten Komponenten als eigentliche giftliefernde Substanz anzusehen ist. Die Entscheidung dieser Frage ist um so schwieriger, als Michaelis (24), Doerr (25) u. a. gerade auf die inkonstante, je nach den Versuchsverhältnissen variierende Beteiligung der bei der Präzipitatabildung in Betracht kommenden Komponenten hinweisen. Gerade auf Grund der Ueberlegung, daß bei Verwendung hochwertiger Antieiweißsera die Präzipitatabildung ganz wesentlich auf Kosten des Präzipitins vor sich geht, und selbst bei Spuren von präzipitabler Substanz es dennoch zur starken Präzipitation kommt, läßt Doerr Stellung nehmen gegen die Auffassung von Vaughan und

1) Anmerkung bei der Korrektur. In der bereits zitierten Arbeit von Friedberger und Castelli wird gleichfalls die Ansicht ausgesprochen, daß bei der Anaphylaxie nicht das Anaphylatoxin spezifisch ist, sondern nur der „Modus der Giftbildung“.

Wheeler, die das anaphylaktische Gift allein aus dem Antigen herleiten wollen.

Auch die Beobachtung von Doerr und Russ (26), daß die Toxizität der Präzipitate, wie sie durch hochwertige Präzipitine entstehen, von der Menge des Antiserums abhängiger ist als von der des Antigens im Reaktionsgemisch, scheint für die Doerr'sche Auffassung zu sprechen.

Auch Friedemann spricht sich dahin aus, daß schon in Anbetracht der nur geringen, zur Auslösung der passiven Anaphylaxie notwendigen Antigenmengen das Gift nicht lediglich dem Antigen entstammen kann.

Um der Lösung dieser Frage näher zu kommen, befaßten wir uns zunächst mit der Frage über die giftliefernde Fähigkeit des Antigens bzw. des Eiweißes.

Im Gegensatz zu den verdauenden Prinzipien des Serums eines mit Eiweiß parenteral vorbehandelten Tieres — des Antieißkörpers und des Komplementes — benutzten wir das unspezifische Trypsinferment des Pankreassaftes und prüften, ob durch eine in vitro vorgenommene tryptische Verdauung des Serumeiweißes Produkte entstehen, die bei parenteraler Einverleibung in den Organismus von Meerschweinchen Symptome hervorrufen, die als Vergiftungserscheinungen im Sinne der Anaphylaxie angesprochen werden dürften. Die Heranziehung der obigen Versuchsanordnung zur Beantwortung der Frage über die giftliefernde Fähigkeit des Antigens schien uns um so mehr gestattet, als auch die Fermente bei mit Eiweiß vorbehandelten Tieren, wie Abderhalden und seine Mitarbeiter zeigen konnten, keineswegs den Charakter der Spezifität tragen.

Der pankreatische Saft wurde aus der 2. Duodenalpapille eines Hundes gewonnen durch Anlegen der von E. London (27) angegebenen Kanüle. (Siehe E. London, Operative Technik zum Studium der Verdauung und Resorption. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, herausgegeben von Prof. Abderhalden.)

Der aufgefangene Saft wurde sogleich im Ventilatorschrank bei Zimmertemperatur getrocknet, später zu den Versuchen in der nötigen Menge destillierten Wassers gelöst (2 Teile Trockensubstanz auf 100 Teile destillierten Wassers)

und im Verhältnis von 1 Teil Pankreassaft auf 10 Teile Serum verwendet.

Die Versuchsanordnung war folgende: 50—60 ccm steril gewonnenen Pferdeserums wurden mit 5—6 ccm Pankreassaft versetzt und Thymol hinzugefügt. Vor dem Beginn des eigentlichen Versuches wurde eine Probe des Serum-trypsingemisches entnommen und 2 Meerschweinchen in die freigelegte Vena jugularis in entsprechenden (in den späteren Versuchsreihen stets gleichbleibenden) Quantitäten eingespritzt. Alsdann wurde das Gemisch in den Thermostaten gestellt und die Verdauung dadurch eingeleitet. Nach verschieden langer Zeit wurden alsdann unter Einhaltung steriler Bedingungen Proben entnommen und einerseits chemisch untersucht (um über den Grad der vor sich gegangenen Spaltung, an der Hand des Zuwachses des formotitrierbaren Stickstoffs sich zu orientieren) und andererseits 2 Meerschweinchen in entsprechenden Quantitäten intravenös injiziert. Die diesbezüglichen Proben wurden stets sorgfältig zentrifugiert und zur Injektion nur Lösungen verwendet, in denen keine makroskopisch wahrnehmbaren Partikelchen suspendiert waren.

Zur Kontrolle wurden stets aus dem Verdauungsgemisch Aussaaten auf Bouillon und Agar gemacht, um eine eventuelle Verunreinigung durch Bakterien rechtzeitig zu bemerken. Zu unseren Versuchen benutzten wir durchgehend das Meerschweinchen, d. h. diejenige Tierspecies, die bekanntlich für den Anaphylaxieversuch hauptsächlich Verwendung findet und deren Empfindlichkeit im Anaphylaxieversuch am deutlichsten zum Ausdruck kommt. (Etwa 400mal empfindlicher als das Kaninchen. Friedberger.)

Um über den vor sich gehenden tryptischen Abbau des Eiweißes sich zu orientieren, wurden die betreffenden Proben des Verdauungsgemisches nach der Methode von Sörensen (28) auf den Gehalt an formotitrierbarem Stickstoff geprüft. Die chemische Untersuchung lag in den bewährten Händen des Leiters der Pathologischen Abteilung, Herrn E. London, dem wir auch an dieser Stelle für die lebenswürdige Uebernahme des chemischen Teils der Arbeit und für die Ueberlassung der unten folgenden Daten unseren herzlichen Dank aussprechen.

Es zeigte sich, daß bereits nach 3-stündiger Verdauung das Serumeiweiß durch Hitze nicht mehr koagulabel war und die rot-violette Biuretreaktion sehr deutlich ausgesprochen war. Nach 24-stündiger Verdauung war schon ein beträchtliches Ansteigen des formoltitrierbaren Stickstoffs nachweisbar, wobei mit zunehmender Verdauungsdauer die Menge des genannten Stickstoffs ständig wuchs, wie aus beifolgender Tabelle hervorgeht.

Verdauungszeit in Stunden	0	23	45	70	94	240	264	312
Amidstickstoff in cem $\frac{n}{5}$ Ba(OH) ₂ } auf 2 cem Verdauungsgemisch }	0,5	0,7	0,8	0,9	1,0	1,4	3,0	4,4

Zur chemischen Analyse des 264-stündigen Verdauungsgemisches wurden 50 cem von letzterem auf 200 cem Volum aufgefüllt, damit die nach N bestimmte Trockensubstanz in ca. 1-proz. Lösung vorhanden wäre. Hernach wurde bis zu 4 Proz. Schwefelsäure hinzugefügt und mit Phosphorwolframsäure wurden die durch dieselbe fällbaren Produkte niedergeschlagen. Damit war eine Scheidung der Monoaminosäuren von den Diaminosäuren und den komplizierteren Aminosäureverbindungen vorgenommen. Das Filtrat wurde alsdann mit Baryt bearbeitet, der Barytüberschuß mit Schwefelsäure gefällt und das Filtrat hernach stark eingedampft.

Nach längerem Eisschrankaufenthalt schieden sich aus dem Filtrate Kristalle von Tyrosin und Leucin ab, die mikroskopisch nachgewiesen werden konnten. Daneben konnte auch die Glutaminsäure durch die Geschmacksprobe nachgewiesen werden. Außerdem waren eine Reihe von anderen Kristallen im Niederschlag vorhanden, über deren Natur ein endgültiges Urteil nicht gefällt werden konnte.

Der Phosphorwolframniederschlag wurde mit Baryt zerlegt, der Barytüberschuß mit H₂SO₄ neutralisiert und die gewonnene Substanz mit dem 10-fachen Volum einer 25-proz. Schwefelsäurelösung während 12 Stunden bearbeitet. Der Schwefelsäureüberschuß wurde hernach mit Baryt entfernt und die Flüssigkeit auf ein Minimalvolum eingedampft. Eine Ausscheidung von Tyrosin und Leucinkristallen konnte selbst nach längerem (ca. 2 Wochen) Eisschrankaufenthalt nicht beobachtet

werden. Aus diesen Befunden kann geschlossen werden, daß der nach 264-stündiger Verdauung stattgehabte Serumeiweißabbau so weit vorgeschritten war, daß fast der ganze Gehalt an Leucin und Tyrosin bereits in Freiheit gesetzt worden ist, und daß, falls in dem Phosphorwolframniederschlag Polypeptide noch vorhanden waren, die Leucin- und Tyrosingruppe in ihnen höchstens in minimalen Mengen vorhanden war. In Anbetracht der relativ großen Menge von ausgefallenen Tyrosin- und Leucinkristallen in der Verdauungsflüssigkeit muß angenommen werden, daß die 264-stündige Verdauungsflüssigkeit an Leucin und Tyrosin übersättigt war.

Obgleich die vorliegenden Untersuchungen keineswegs den Charakter einer abgeschlossenen und exakten Antwort geben auf die Frage über die chemische Natur der toxisch wirkenden Substanzen in dem tryptischen Verdauungsgemische, so kann dennoch auf Grund der unten folgenden Tierversuche behauptet werden, daß die ausgesprochen toxische Wirkung des Verdauungsgemisches, wie sie aus Versuchsreihe II hervorgeht, auf ein Verdauungsstadium bezogen werden muß, in dem wir es mit einem bereits tiefen Abbau des Eiweißmoleküls zu tun haben. Nichtsdestoweniger müssen wir mit Wahrscheinlichkeit annehmen, daß neben den weit abgebauten Produkten auch Komplexe von höherem Molekulargewicht in dem Verdauungsgemisch vorhanden waren, da bekanntlich bei der tryptischen Eiweißverdauung gewisse Amidosäuren, wie z. B. das Prolin, das Phenylalanin und andere der spaltenden Fermentwirkung größeren Widerstand entgegensetzen.

Eine Reihe von weiteren chemischen Untersuchungen dürften vonnöten sein, um über die Natur der toxisch wirkenden Eiweißspaltungsprodukte eine endgültige Aufklärung zu gewinnen.

Die Prüfung der verschiedenen Proben im Tierversuch geben wir tabellarisch wieder, wobei die klinischen Symptome in kurzer Protokollform beigelegt sind.

I. Versuchsreihe.

Ausgangsmaterial: 60 ccm Pferdeserum, die mit 6 ccm Pankreassaft und einem Kristall Thymol versetzt wurden. Verdauung bei 37° im Brutschrank.

Nach verschieden langer Verdauungszeit wurden Proben entnommen, zentrifugiert und in den in der Tabelle angegebenen Quantitäten Meerschweinchen in die freigelegte Vena jugularis injiziert.

Versuchstier Meerschw.	Gewicht g	Injektions- material	Verdauungs- dauer	Tem- peraturen vor und nach der Injektion	Klinische Symptome
20	300	0,2 Pferdeser.- Trypsin- gemisch I in 2 ccm Vol. iv.	vor dem Thermo- staten- aufenth.	vord. Inj. — nach 20' 36,2 „ 60' 38,1 „ 3 ^h 39,2	Keinerlei Symptome.
21	340	1,5 desselben Gemisches I in 2 ccm Vol. iv.	dgl.	vord. Inj. 38,5 nach 20' 37,4 „ 1 ^h 38,8 „ 3 ^h 39,9	Keinerlei Symptome.
22	320	0,2 desselben Gemisch. I in 2 ccm Vol. iv.	3 Std.	vord. Inj. 39,2 nach 20' 39,2 „ 1 ^h 40,8	Dyspnoische Atmung, sonst keinerlei Symptome, bleibt gesund.
23	290	1,5 desselben Gemisches I in 2 ccm Vol. iv.	3 Std.	vord. Inj. 38,7 nach 20' 37,9 „ 1 ^h 41,2	6 ¹⁸ Injektion iv. 6 ¹⁸ unruhig, Dyspnoe, kratzt sich, niest. 6 ¹⁹ zittert, sträubt das Fell. 6 ²⁵ zittert. Erholt sich und bleibt gesund.
24	290	0,2 desselben Gemisches I in 2 ccm Vol. iv.	23 Std.	vord. Inj. 38,7 nach 20' 37,0 „ 1 ^h 38,8 „ 3 ^h 39,5	1 ⁴⁸ Injektion iv. 1 ⁴⁸ sehr unruhig. 1 ^{48 1/2} liegt auf d. Seite, atmet schwer. 1 ⁴⁸ Atmung ruhiger, setzt sich. 1 ⁵⁰ kratzt sich, zittert, sträubt das Fell. Erholt sich und bleibt gesund.
25	290	1,5 desselben Gemisches I in 2 ccm Vol. iv.	23 Std.	vord. Inj. 38,7 n. 10' unt. 35,0 n. 30' unt. 35,0 nach 1 ^h 36,4 „ 3 ^h 39,9	2 ¹⁸ Injektion iv. Liegt sofort auf der Seite, Atmung oberflächlich. 2 ¹⁴ krampfartige Zuckungen. 2 ¹⁵ aufgesetzt, bleibt es sitzen. 2 ²⁰ zittert, piepst. Erholt sich und bleibt gesund.
26	300	0,2 desselben Gemisches I in 2 ccm Vol. iv.	45 Std.	vord. Inj. 38,4 nach 10' 37,1 „ 1 ^h 38,0 „ 3 ^h 39,7	1 ²⁸ Injektion iv. 1 ³⁰ Dyspnoe, niest, springt, unruhig. 1 ³⁵ zittert, unruhig. Erholt sich und bleibt gesund.
27	300	1,5 desselben Gemisches I in 2 ccm Vol. iv.	45 Std.	vord. Inj. 38,6 nach 10' 36,6 „ 1 ^h 38,9 „ 3 ^h 38,3	2 ⁴⁸ Injekt. iv. Sofort starke Dyspnoe, liegt auf dem Bauch mit ausge- streckten Beinen. 2 ⁴⁷ liegt auf der Seite, Zuckungen. 2 ⁴⁸ oberflächliche schnelle Atmung, 110 in der Minute. 2 ⁵⁰ zittert, niest, würgt. 2 ⁵⁵ erholt sich allmählich. Erholt sich und bleibt gesund.

Versuchstier Meerschw.	Gewicht g	Injektions- material	Verdauungs- dauer	Tem- peraturen vor und nach der Injektion	Klinische Symptome
30	370	0,2 Pferdeser- Trypsin- gemisch II in 2 ccm Vol. iv.	70 Std.	vord. Inj. 38,2 nach 5' 36,5 " 30' 37,3 " 1 ^h 38,8 " 3 ^h 39,1	3 ⁴ 1/2 Injektion iv. 3 ⁶ Dyspnoe, kratzt sich, sträubt das Fell. 3 ⁸ niest, sträubt das Fell. Erholt sich und bleibt gesund.
31	360	1,5 desselben Gemisches II in 2 ccm Vol. iv.	70 Std.	vord. Inj. 38,0 n. 6' unt. 35,0 nach 30' 35,0 " 1 ^h 36,3 " 3 ^h 38,9	3 ²³ Injektion iv. Sofort vollständige Prostration, liegt, Atmung ganz minimal, Urinabgang, Reflexe (corneal) fehlen. 3 ²⁴ fängt an zu atmen, krampfartige Inspirationen. 3 ²⁷ krampfartige Zuckungen, speziell in den Hinterbeinen. 3 ³⁰ fängt an sich zu erholen, obgleich d. hint. Körperh. wie gelähmt ist. Erholt sich schließlich u. bleibt gesund.
34	325	0,2 desselben Gemisches II in 2 ccm Vol. iv.	94 Std.	vord. Inj. 38,1 nach 10' 35,8 " 30' 36,0 " 1 ^h 37,0 " 3 ^h 39,1	2 ⁵⁰ Injektion iv. Sogleich danach sehr schwach, kratzt sich, er- schwerte Atmung. 2 ⁵² 120 Atemzüge in der Minute. 2 ⁵⁵ Zuckg., zittert, sträubt das Fell. Erholt sich und bleibt gesund.
35	380	1,5 desselben Gemisches II in 2 ccm Vol. iv.	94 Std.	vord. Inj. 37,8 nach 10' 35,4 " 30' 35,0 " 1 ^h 35,7 n. 1 ^h 5' Exitus	3 ⁵ Injektion iv. Sofort danach volle Prostration, liegt, ganz oberfläch- liche krampfartige Atmung. 3 ⁷ krampfartige Zuckungen, die At- mung wird frequent und bleibt oberflächlich, 160 in der Minute. 3 ⁹ fängt an die Vorderpfote zu beweg., Hinterpfote gleichsam paralytisch. 3 ¹³ fängt an sich zu erholen, zittert. Erholt sich scheinbar. 4 ¹⁰ beim Anlegen der Metallklemmen Exitus unter Krampferschein.
38	365	1,5 desselben Gemisches II in 2 ccm Vol. iv.	118 Std.	vord. Inj. 38,2 nach 10' 35,7 " 30' 35,0 " 1 ^h 36,9	3 ¹⁴ Injektion iv. Liegt sofort voll- ständig soporös da, keine Atmung, schaumige Flüssigkeit aus d. Nase. 3 ¹⁵ Cheyne-Stokesscher Atemtypus. Corneal- u. Schmerzrefl. fehlen. 3 ¹⁶ 1/2 fängt an, oberflächlich und frequent zu atmen. 3 ²⁰ liegt noch immer bewußtlos auf der Seite. 3 ³¹ krampfartiger Husten, Atmung 176 in der Minute. 3 ³⁸ Kot- und Urinabgang, fängt an sich zu erholen, hinterer Körper- teil gewissermaßen paralytisch. Erholt sich schließlich u. bleibt gesund.

Versuchstier Meersch. Gewicht	Injektions- material	Verdauungs- dauer	Tem- peratur vor und nach der Injektion	Klinische Symptome
40	1,5 Pferdeser.- Trypsin- gemisch II in 2 ccm Vol. iv.	166 Std.	vord. Inj. 38,1 nach 10' 35,0 „ 30' 35,1 „ 1 ^h 35,6 „ 3 ^h 38,6	Wesentlich dasselbe Bild wie bei vorigem Versuchstier, die Störungen seitens des Atemzentrums sind noch stärker ausgeprägt. Erholt sich und bleibt am Leben.
44	1,5 desselben Gemisches II in 2 ccm Vol. iv.	240 Std.	vord. Inj. 38,6 nach 10' 36,2 „ 30' 35,4 n. 1 ^h 10' Exit.	3 ²⁰ Injektion iv. Sofort tief soporös, liegt mit ausgestreckten Beinen auf dem Bauch, Urinabgang. 3 ²² Atmung ganz oberflächlich, aber regelmäßig, 100 in der Minute. 3 ²⁸ aufgesetzt, fällt es kraftlos auf die Seite. 3 ²⁸ Krampfart. Zuckg. in den Beinen. 3 ³⁰ erholt sich etwas. 4 ³⁰ Exitus.
47	1,5 desselben Gemisches II in 2 ccm Vol. iv.	312 Std.	vord. Inj. 37,5 nach 5' Exitus	3 ³⁵ Injektion iv. 3 ³⁸ schwere Dyspnoe. 3 ³⁷ Augenblinzeln und Tränen, At- mung sistiert, Urinabgang. 3 ³⁸ atmet wieder. 3 ⁴⁰ Exitus.

Ein ganz ähnliches Resultat erhielten wir mit dem Serum-trypsingemisch No. 3, das nach 117-stündiger Brutschrankverdauung in der Dosis von 1,5 bei intravenöser Injektion bereits schwere toxische Erscheinungen hervorrief und nach 264-stündiger Verdauung in der gleichen Dosis den Tod des Versuchstieres verursachte. Die letzte Probe wurde einer genaueren chemischen Untersuchung unterworfen, deren Ergebnis wir bereits oben wiedergegeben haben.

Versuchsreihe II siehe p. 266.

Aus diesen Versuchsreihen geht hervor, daß das Pferdeserumtrypsingemisch, welches vor Beginn der Verdauung anstandslos in der Dosis von 1,5 ccm (bei intravenöser Injektion) von mittelschweren Meerschweinchen vertragen wird, durch die eingeleitete Trypsinverdauung derart verändert wird, daß es nunmehr gewisse toxische Eigenschaften annimmt. Des weiteren zeigen die Versuche, daß die Giftigkeit des Gemisches mit zunehmender Dauer der tryptischen Verdauung wächst,

II. Versuchsreihe.

Versuchstier Meersch.	Gewicht	Injektions- material	Verdauungs- dauer	Temperatur vor und nach der Injektion	Klinische Symptome
49	360 g	1,5 Verdauungs- gemisch III in 2,0 ccm Vol. iv.	117 Std.	v. d. Injekt. 38,8 nach 10' 37,3 " 10' 37,3 " 1 ^b 38,5 " 3 ^b 38,9	3 ²⁰ Injektion iv., sofort so- porös, liegt auf d. Seite, schwere Dyspnoe. 3 ²¹ Atmung 124 in d. Min. 3 ²² Hinterteil gewissermaßen paralysiert. 3 ²⁰ sehr schwach, fängt aber an, sich zu erholen, zittert. Erholt sich und bleibt am Leben.
50	410 g	1,5 Verdauungs- gemisch III in 2,0 ccm Vol. iv.	264 Std.	v. d. Injekt. 38,6 nach 10' 36,0 " 1 ^b Exitus	3 ³¹ Injektion iv., liegt sofort auf der Seite, soporös, schwerste Dyspnoe, At- mung 108 in der Min. 3 ³² krampfartige Zuckung., schwerste Dyspnoe, oberflächliche Atmung 4 ⁰⁰ aufgesetzt bleibt es sit- zen, Atmung 192 in der Minute. 4 ³⁰ ganz schwach, benomm. 4 ³⁴ krampfartige Sprünge. 4 ³⁵ Exitus.

so daß die 240- und 312-stündigen Proben sogar den Tod des Versuchstieres verursachten.

Die chemische Untersuchung weist des ferneren darauf hin, daß zwischen Toxizität des Gemisches und dem Gehalt desselben an freien Monoaminosäuren, id est zwischen Toxizität und dem Grade des Eiweißabbaues ein kausaler Zusammenhang mehr als wahrscheinlich ist. Es dürfte daher gerechtfertigt erscheinen, als Träger der in den Versuchen zutage getretenen toxischen Wirkung der Serumtrypsingemische gewisse intermediäre Spaltungsprodukte des genuinen Serumeiweißes anzunehmen, die durch die tryptische Verdauung des Vollserums entstehen. Der biochemischen Forschung muß es vorbehalten sein, in der großen Reihe der Abbauprodukte des Eiweißes diejenigen ausfindig zu machen, denen die toxischen Eigenschaften wesentlich zukommen.

Wie aus den Aufzeichnungen ersichtlich, handelt es sich in unseren Versuchen um ein Gift, das in erster Linie auf das Atemzentrum wirkt und daher als Nervengift bezeichnet werden muß.

Was die Deutung der beobachteten toxischen Erscheinungen eines durch tryptische Verdauung abgebauten Eiweißes anlangt, so sind wir der Ansicht, daß sie mit den Anaphylaxie-symptomen in Zusammenhang stehen. Wenn auch das von uns beobachtete klinische Bild weniger scharf gezeichnet ist als das Bild des klassischen anaphylaktischen Shocks im Anaphylaxieversuch, so ist doch eine durchgreifende Aehnlichkeit mit letzterem nicht zu verkennen. Speziell die im Vordergrunde der Erscheinungen stehenden Störungen seitens der Atmung, die paralytischen Erscheinungen und der Temperaturabfall kurz nach erfolgter Injektion sind Symptome, die auch als ständige Begleiterscheinungen der Anaphylaxie in Betracht kommen.

In 2 Fällen achteten wir auch auf die von Biedl und Kraus (29) nachgewiesenen Erscheinungen des Verschwindens von polynukleären Leukocyten aus dem peripheren Blute und auf die Herabsetzung der Gerinnbarkeit des Blutes, die bekanntlich sowohl bei der Peptonvergiftung als auch während des anaphylaktischen Anfalles beim Hunde aufzutreten pflegen. Es zeigte sich, daß auch in unseren Fällen es zu einem fast völligen Verschwinden der gelapptkernigen neutrophilen Blutzellen aus dem peripheren Blute kam und zu einer Verminderung der Gerinnbarkeit des Blutes. Diese Beobachtung ist aber nur beiläufig gemacht worden und bedarf noch weiterer diesbezüglicher Untersuchungen.

Unsere Befunde stehen übrigens auch in anderer Hinsicht in einem gewissen Parallelismus zu den Beobachtungen von Biedl und Kraus (29). Biedl und Kraus fanden nämlich, daß der anaphylaktische Symptomenkomplex eine Vergiftung darstellt, welche der Peptonvergiftung nicht nur völlig gleicht, sondern auch in einer näheren Beziehung zur letzteren stehen dürfte. Die Befunde von Biedl und Kraus sind an Hunden gemacht worden, sollen aber für Meerschweinchen keine Geltung haben (Werbitzky, 30).

Auch wir haben einige diesbezügliche Versuche angestellt, aus denen hervorgeht, daß Meerschweinchen die intravenöse Injektion selbst relativ großer Peptonmengen anstandslos vertragen (Pepton Roche).

Wenn somit das im Handel käufliche Pepton anscheinend keine toxische Wirkung Meerschweinchen gegenüber entfaltet, so ist der Parallelismus zwischen den Befunden von Biedl und Kraus und den unsrigen dennoch gewahrt. Wir konnten nämlich in unseren Versuchen zeigen, daß während der tryptischen Serumeiweißverdauung Abbauprodukte des Eiweißes entstehen, die auch bei Prüfung am Meerschweinchen Symptome hervorrufen, welche recht nahe stehen den Vergiftungserscheinungen durch Pepton, wie sie Biedl und Kraus bei Hunden beobachtet haben.

Der Einwand, daß trotz starken Zentrifugierens und der ständigen Verwendung von Injektionslösungen, die makroskopisch keine irgendwie gröberen Partikelchen enthielten, die klinischen Erscheinungen möglicherweise dennoch durch Embolien hervorgerufen sein könnten, ist, wie der folgende Versuch zeigt, nicht stichhaltig.

Auch die Möglichkeit, daß das Trypsin (in den von uns verwendeten Mengen) selbst, sei es durch Selbstverdauung, sei es durch sonst irgendwelche uns vielleicht unbekannten Vorgänge bei längerem Thermostataufenthalt toxische Eigenschaften annehmen könnte, ist, wie der Kontrollversuch zeigt, von der Hand zu weisen ¹⁾.

1) Anmerkung bei der Korrektur. Die kurz mitgeteilte Beobachtung von Friedberger und Gröber (Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 6, Heft 1, p. 280), daß die intravenöse Injektion gewisser proteolytischer Fermente (z. B. Trypsin) beim normalen Kaninchen und Meerschweinchen typischen Anaphylaxietod bewirkt, steht in einem gewissen Gegensatz zu unseren Befunden.

Allein schon der Umstand, daß in unseren Versuchen das reine Sekret der Bauchspeicheldrüse Verwendung fand, während es bei den obigen Versuchen, wie Herr Prof. Friedberger mir mitteilte, sich um Fermente des Handels handelte, läßt diesen Unterschied genügend erklären. Es könnte sich, eine Möglichkeit, die auch Friedberger und Gröber diskutieren, eben um dieselben Spaltungsprodukte des Eiweißes handeln.

III. Versuchsreihe.

Versuchstier Meerschw.	Gewicht	Injektions- material	Verdauungs- dauer	Temperatur vor und nach der Injektion	Klinische Symptome
68	360 g	1,5 ccm Pferde- serum-Trypsin- gemisch IV in 2,0 ccm Vol. Filtriert durch präzi- pitatdichtes Filter iv.	260 Std.	v. d. Injekt. 37,9 nach 10' 35,7 " 30' 36,4 " 1 ^h 39,2 " 3 ^h 38,8	3 ¹⁵ Injektion iv., liegt sofort auf der Seite, Urinab- gang, schwere oberfläch- liche Atmung. 3 ¹⁹ Atmung 100 in der Min., Hinterbeine gewisser- maßen paralytisch. 3 ²² aufgesetzt fällt es wieder auf die Seite. 3 ²⁶ zittert, fängt an, sich zu erholen. 3 ²⁹ fibrilläre Zuckungen im vorderen Körperteil, At- mung 140 in der Min. 3 ⁴⁵ erholt sich langsam. Bleibt am Leben.
70	400 g	1,5 ccm desselben Gemisches IV in 2,0 ccm Vol. Unfiltriert iv.	260 Std.	v. d. Injekt. 38,0 nach 10' 36,0 " 30' 37,3 " 1 ^h 37,5 " 3 ^h 38,7	3 ¹⁵ Injektion iv., liegt sofort auf der Seite, schwere Dyspnoe, soporös. 3 ²⁴ Atmung 120 in der Min., Extremitäten gleichsam paralytisch. 4 ¹ zittert, aufgesetzt bleibt es sitzen, ganz schwach 4 ⁹ Atmung 100 in der Min. Erholt sich und bleibt am Leben.
71a	450 g	2,0 ccm Trypsin- lösung (1 Teil Pankreassaft auf 10 Teile physiol. Kochsalzlösung), die mit einem Kristall Thymol 4 Tage im Brut- schrank bei 37° gestanden hat	96 Std.		Keinerlei Symptome.

Warum in dieser Versuchsreihe (III) das 260-stündige Perdeserum-Trypsinverdauungsgemisch nicht tödlich wirkte (vgl.

wie in unseren Versuchen, die durch Autolyse der Drüse gebildet werden und bei der Fermentgewinnung in den Auszug übergehen.

In diesem Falle wäre also die Giftigkeit der Fermentauszüge eher sogar eine Bestätigung unserer Befunde.

Versuchsreihe II), können wir nicht entscheiden, um so weniger, als in diesem Falle die chemische Untersuchung der Verdauungsprobe aus äußeren Gründen unterblieb. Möglicherweise war in diesem Falle trotz gleicher Versuchsanordnung der Eiweißabbau nicht weit genug vor sich geschritten.

Daß schließlich auch das Thymol, das wir ja zu Konservierungszwecken dem Verdauungsgemisch zusetzen, keinen toxischen Einfluß ausübt, geht aus dem folgenden Kontrollversuch hervor.

Meerschweinchen No. 23 a, 340 g.

Injektion von 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung, die 9 Tage mit ein paar Kristallen Thymol im Thermostaten gestanden hat in die Vena jugularis. Keinerlei Symptome.

Temperatur vor der Injektion 37,8°,
nach 10' 37,5°,
nach 1^h 38,0°.

Es muß auf den ersten Blick auffällig erscheinen, daß unsere Versuchsergebnisse so wenig übereinstimmen mit denjenigen von Wells (siehe oben). Abgesehen aber davon, daß die tryptische Verdauung in einem Falle mit dem käuflichen Präparate von Parke & Davis „Pankreatin“ vorgenommen wurde und nicht wie in unseren Versuchen mit dem natürlichen Sekret der Bauchspeicheldrüse, das sicherlich ersterem in seiner Wirkung weit überlegen ist, ist auch die von uns angewendete Versuchstechnik im Tierversuch von der von Wells geübten verschieden.

Während es sich bei den Wellsschen Versuchen um intraperitoneale Injektionen des Trypsinverdauungsgemisches bei sensibilisierten Tieren handelt, prüften wir das betreffende Gemisch auf intravenösem Wege an normalen Tieren.

Von welcher ausschlaggebenden Bedeutung aber die Art der Prüfung ist, geht aus folgendem Versuch hervor, in dem dasselbe 260-stündige Trypsin-Verdauungsgemisch (Versuchsreihe III), das in der Dosis von 1,5 ccm bei intravenöser Injektion die schwersten Erscheinungen hervorrief, bei intraperitonealer Injektion selbst in doppelter Dosis nur leichte Erscheinungen verursachte.

Meerschweinchen No. 67, 360 g.

3⁰⁰ Injektion von 3 ccm Gemisch No. IV (siehe Versuchsreihe III)
intraperitoneal.

3¹⁰ unruhig.

3¹⁷ sträubt das Fell, Atmung 100 in der Minute.

3²⁰ macht einen müden Eindruck, sonst keinerlei Symptome, erholt
sich und bleibt gesund.

Temperatur vor der Injektion 38,2°,

nach 10' 36,3°,

nach 30' 36,0°,

nach 1^h 36,1°,

nach 3^h 37,9°.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß auch Wells gewisse Krankheitserscheinungen bei intraperitonealer Injektion des Serumtrypsingemisches (V. Probe 9-monatliche Verdauung) beobachtete, die er jedoch von den anaphylaktischen Symptomen unterscheidet. Wells glaubt, daß die durch das Verdauungsgemisch hervorgerufenen Symptome, da sie in gleicher Weise auch bei unvorbehandelten Tieren aufzutreten pflegen, auf eine Toxizität des Verdauungsgemisches bezogen werden müssen, eine Ansicht der wir, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, durchaus beistimmen.

Was nun die Versuche von Pick und Yamanouchi anlangt, so ist allein schon der Umstand, daß die Versuche von Pick und Yamanouchi an einer anderen Tierspecies (an Kaninchen) durchgeführt sind, genügend, um den auffälligen Unterschied der Versuchsergebnisse zu erklären. Die unten folgenden Kontrollversuche an zwei Kaninchen beweisen dies auf das deutlichste. Wir injizierten dasselbe 260-stündige Trypsinverdauungsgemisch IV (bei Meerschweinchen No. 68 ruft 1,5 ccm bei intravenöser Injektion die schwersten Erscheinungen hervor, siehe Versuchsreihe III) zwei Kaninchen in 4-facher Dosis intravenös, ohne daß irgendwelche klinische Symptome zu beobachten waren.

Kaninchen No. 15, 2450 g.

Injektion von 6 ccm 260-stündigen Gemisches IV in die Ohrvene.

Keinerlei Symptome.

Temperatur vor der Injektion 39,2°,

nach 10' 39,8°,

nach 30' 40,0°.

Kaninchen No. 16, 2050 g.

Injektion von 6 ccm 260-stündigen Gemisches IV in die Ohrvene.

Keinerlei Symptome.

Temperatur vor der Injektion 39,5°,

nach 10' 39,4°,

nach 30' 39,4°.

Die oben angeführten Kontrollversuche zeigen, daß der Unterschied zwischen unseren Versuchsergebnissen und denen von Pick und Yamanouchi wesentlich durch die Verwendung zweier verschiedener Tierarten zu erklären ist.

Zusammenfassung.

1) Während der tryptischen Serumeiweißverdauung entstehen toxische Produkte, die bei Prüfung im Tierversuch (Meerschweinchen) anaphylaxieähnliche Symptome hervorrufen.

2) Mit zunehmender Verdauungsdauer (geprüft bis zur 312. Stunde) wächst auch die Toxizität des tryptischen Verdauungsgemisches.

3) Unspezifische Fermente (das Trypsin im Pankreassaft) vermögen aus einem an und für sich ungiftigen Eiweiß giftige Produkte abzuspalten.

4) Unsere Versuche stützen die bereits mehrfach ausgesprochene Meinung, daß die Anaphylaxie eine Vergiftung sei, hervorgerufen durch giftige intermediäre Spaltungsprodukte des Eiweißes. Nichts destoweniger liegt es uns fern, zu behaupten, daß das Antigen selbst als einzige giftliefernde Substanz beim Anaphylaxieversuch in Betracht kommt.

5) In unseren Versuchen stieg die Toxizität des Verdauungsgemisches mit zunehmendem Gehalt an formeltitrierbarem Amidstickstoff.

Literaturverzeichnis.

- 1) Friedemann und Isaac, Arch. f. exp. Pharm. u. Path., Bd. I, 1905.
- 1a) Friedemann, U., Med. Klinik, 1910, No. 17.
- 2) — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, Heft 5, p. 591.
- 3) Friedberger, E., ebenda, Bd. 4, Heft 5, p. 639.
- 4) Abderhalden, E. und Pincussohn, L., Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 61, p. 201.

- 5) Abderhalden, E., und Weichardt, W., Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 62, p. 120.
- 6) — und Schlittenheim, A., ebenda, Bd. 61, Heft 6.
- 7) — und Pincussohn, L., ebenda, Bd. 62, p. 243.
- 8) — — ebenda, Bd. 64, p. 100.
- 9) — und Immisch, K., ebenda, Bd. 64, p. 423.
- 10) — und Israel, A., VI. Mitteilung, ebenda, Bd. 64, p. 426.
- 11) — und Sleeswijk, J., VII. Mitteilung, ebenda, Bd. 64, p. 427.
- 12) — und Brahm, C., VIII. Mitteilung, ebenda, Bd. 64, p. 429.
- 13) — und Pincussohn, L., IX. Mitteilung, ebenda, Bd. 64, p. 433.
- 14) Weichardt, W., Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 17.
- 15) Friedberger, E. und Hartoch, O., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, Heft 6.
- 16) Sleeswijk, ebenda, Bd. 2, Heft 2.
- 17) Doerr, R. und Russ, V., ebenda, Bd. 3, Heft 7.
- 18) Vaughan, V. C. and Wheeler, S. M., Journ. of Infect. Diseases, Vol. IV., 1907.
- 19) — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1.
- 20) — Amer. med. Assoc., 1905.
- 21) Nicolle et Abt, Ann. Pasteur, 1908.
- 22) Pick, E. P. und Yamanouchi, T., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, Heft 5.
- 23) Wells, G. H., The Journ. of Infect. Diseases, Vol. 5, 1908.
- 24) Michaelis, L., Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, herausgegeben von Prof. Abderhalden.
- 25) Doerr, R., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Ref., Bd. 2, Heft 7—8.
- 26) — und Russ, V., Zit. nach Doerr, ebenda, Bd. 2, Heft 7—8.
- 27) London, E., Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, herausgegeben von Prof. Abderhalden.
- 28) Söhrensens, Biochem. Zeitschr., Bd. 7.
- 29) Biedl, A. und Kraus, R., Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 11.
- 30) Werbitzky, T. W., C. rend. Soc. Biol., T. 67, 1909.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.]

Weitere Aviditätsstudien an Agglutininen.

(VII. — IX. Mitteilung.)

Von **B. Busson, P. Th. Müller** und **A. Rintelen**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Juni 1910.)

- I. Einleitung. Von Prof. P. Th. Müller.
- II. Ueber das Verhalten von Agglutinationstiter und Avidität in den späteren Stadien der Immunisierung und bei der Revaccination mit Typhusantigen. Mit 23 Kurven im Text. Von Dr. B. Busson und Dr. A. Rintelen.
- III. Ueber Aviditätsunterschiede bei subkutaner und intraperitonealer Immunisierung mit Typhusbacillen. Von Dr. A. Rintelen.

I. Einleitung.

Von Prof. **Paul Th. Müller**.

Als Ergebnis unserer bisherigen Aviditätsstudien können wir etwa die folgenden Sätze hinstellen.

1) In ein und demselben Serum können Antikörper von sehr verschiedener Avidität vorhanden sein.

2) Frische Sera können beim Lagern an Avidität einbüßen, ohne daß ihr Titer im gleichen Verhältnis abzunehmen brauchte.

3) Auch in vivo, beim passiv immunisierten Tier, und zweifellos auch beim aktiv immunisierten, nimmt die Avidität der im Blut zirkulierenden Antikörper mit der Zeit ab. Beim aktiv immunisierten Tier werden schon aus diesem Grunde neben avideren jüngeren Antikörpern solche älteren Datums, die bereits an Avidität eingebüßt haben, vorhanden sein.

4) Im Verlauf der Immunisierung steigt die Avidität mit dem Serومتiter beträchtlich an. Meist besteht dabei — wenigstens in einer ersten Phase der immunisatorischen Behandlung der Tiere, ein zweifelloser Parallelismus zwischen Aviditäts- und Titerkurven.

5) Ueberläßt man dann die Tiere sich selbst, ohne sie weiter zu injizieren, so findet man nach längerer Zeit Titer und Avidität wieder beträchtlich vermindert.

6) In einem gegebenen Moment werden also Antikörper aus verschiedenen Phasen der Immunisierung nebeneinander im Serum vorhanden sein: ältere, weniger avide, und jüngere von höherer Avidität oder umgekehrt, je nach dem Stadium, in welchem sich das Versuchstier befindet.

7) Verschiedene Versuchstiere zeigen in bezug auf die Avidität der von ihnen produzierten Antikörper ein verschiedenes Verhalten, insofern die einen schon bei relativ niedrigem Titer bedeutend höhere Aviditäten aufweisen, als die anderen.

Ich hatte mich bemüht, auf Grund dieser in ziemlich beträchtlichem Umfange angestellten Versuche und der dabei gewonnenen Ergebnisse wahrscheinlich zu machen, daß derjenige Faktor, welcher vor allem die Avidität der neuproduzierten Antikörper bestimmt, die Intensität eben dieses Neubildungsvorganges ist, wobei ich als theoretischen Ausgangspunkt für diese Auffassung die wohl nicht unplausible Annahme machte, daß die im Verlauf der Immunisierung beobachtete Aviditätssteigerung ein Zeichen der Anpassung, der wachsenden Uebung der Zellen, auf einen bestimmten Reiz zu reagieren, darstellt. Je intensiver die produktive Tätigkeit der Zellen, je größer ihre Uebung und ihre Anpassung an den antigenetischen Reiz, desto größer mußten dementsprechend die Aviditäten der gelieferten Immunprodukte sein. Wie ich gleich hier vorgreifend bemerken möchte, läßt sich diese zunächst ganz allgemeine Betrachtungsweise ohne weiteres auch auf die einzelnen Organe und Zellgebiete der Organismus anwenden und spezialisieren. Demgemäß werden wir also erwarten dürfen, daß solche Organsysteme, welche bei der Produktion der Antikörper intensiv beteiligt sind, avide Produkte liefern werden, als solche Gebiete, die nur wenig und langsam Antikörper produzieren. Daneben ist aber auch die Möglichkeit zu erwägen, daß die verschiedenen Organe je nach ihrer Beschaffenheit von vornherein und bei gleicher Produktionsintensität Antikörper von etwas verschiedener Avidität erzeugen könnten. Da nun die im Serum enthaltenen Immunsustanzen zweifellos ein Gemisch der von den Organsystemen gelieferten

Produkte darstellen, so haben wir damit einen weiteren Faktor kennen gelernt, welcher verursacht, daß gleichzeitig Antikörper von sehr verschiedener Avidität nebeneinander im Blute kreisen. Außer diesem eben erörterten Faktor kommt ja, wie wir in früheren Arbeiten auseinandergesetzt haben, noch in Betracht, daß gleichzeitig Antikörper aus verschiedenen Immunisierungsperioden und von verschiedenem Grade der Abschwächung im Serum vorhanden sind.

Aviditätsunterschiede der im Blut zu einer gegebenen Zeit enthaltenen Immunsustanzen können somit entweder daher rühren, daß dieselben

1) aus verschiedenen Organen stammen, die nicht mit gleicher Intensität an der Antikörperproduktion beteiligt sind bzw. von vornherein und bei gleicher Tätigkeit verschieden avide Produkte liefern; oder daher,

2) daß sie aus verschiedenen Perioden der Immunisierung stammen, also aus Zeiten verschieden intensiver Antikörperproduktion, oder endlich daher,

3) daß sie verschieden lange und intensiv den Abschwächungsvorgängen, die sich in vitro wie in vivo abspielen, unterworfen waren.

Als Gründe dafür, daß trotz dem unleugbaren Zusammenhang zwischen Intensität der Antikörperproduktion und Avidität der gelieferten Immunprodukte kein absoluter Parallelismus zwischen Titer und Avidität zu bestehen braucht, der Serumtiter also nicht etwa ein Maß für die Aviditäten abgibt, habe ich bereits in der Einleitung zu unserer vorhergehenden Arbeitenserie einige Punkte angeführt:

1) Individuelle Differenzen zwischen den verschiedenen Versuchstieren, die bewirken, daß dem gleichen Titer nicht die gleiche Avidität entspricht.

2) Die Phase der Immunisierung, in welcher sich die Versuchstiere befinden. Stehen dieselben noch unter dem Einfluß der letzten Einspritzung von Antigen, so können sie bei relativ hohem Titer abnorm geringe Aviditäten aufweisen, da die hochaviden Antikörper durch Absorption entfernt wurden und die Gesamtavidität dementsprechend eine beträchtliche Herabsetzung er-

fahren mußte. Die Aviditätskurve wird also in solchem Falle eine beträchtliche Absenkung zeigen, während die Titerkurve dabei sogar noch weiter ansteigen kann.

3) Ein weiterer Faktor, der — ebenfalls von der Phase der Immunisierung abhängig — möglicherweise von Einfluß sein kann, wurde darin gefunden, daß ein und derselbe Serumtiter, je nachdem, entweder so zustande kommen kann, daß viel Antikörper gebildet, aber auch viele zerstört werden, oder aber auch so, daß zwar die Neubildung der Antikörper eine zögernde ist, dafür aber auch nur eine geringe Zerstörung der Antikörper stattfindet. Bei gleichem Titer würden in solchen Fällen also trotzdem sehr verschiedene Aviditäten vorhanden sein können, da die Intensität der Produktion von Antikörpern ja in beiden Fällen sehr verschieden wäre.

4) Endlich können auch die Abschwächungsvorgänge, denen die Avidität der Antikörper im Organismus unterworfen ist, in den verschiedenen Phasen der Immunität verschiedene sein und zu Aviditätsdifferenzen bei gleichem Titer Veranlassung geben.

5) Zu diesen verschiedenen Momenten hat sich nun noch ein weiterer Umstand hinzufügen lassen, der vielleicht von noch größerem Interesse ist, und das ist die Art und Weise, in welcher die Immunisierung der Versuchstiere geleitet wurde. Rintelen hat auf meine Veranlassung untersucht, wie sich Titer und Aviditäten verhalten, wenn nicht, wie bei unseren bisherigen Versuchen, intraperitoneal sondern subkutan injiziert wird. Das Ergebnis dieser Versuche war nun, wie aus seiner nachstehenden Publikation hervorgeht, ein außerordentlich auffallendes. Es fanden sich nämlich bei der subkutanen Behandlungsweise der Tiere ganz ungewöhnlich hohe Aviditäten bei recht niedrigem Titer. So betrugen z. B. die einer Titerhöhe von 100—1000 entsprechenden Absorptionsquotienten bei den Subkutantieren im Durchschnitt 0,49, während bei den Peritonealtieren nur 0,2 bzw. 0,29 gefunden worden war.

Wie war diese merkwürdige Beobachtung zu erklären? Zweifellos muß angenommen werden, daß die antikörperbereitenden Organe, die bei den beiden Arten der Immunisierung in Aktion treten, wenigstens

zum Teil nicht die gleichen sind; bei den relativ langsam sich abspielenden Resorptionsvorgängen im subkutanen Gewebe werden diese selbst wie die regionären Lymphdrüsen am längsten und intensivsten mit dem Antigen in Berührung kommen; bei den weit rascheren Resorptionsverhältnissen in der Bauchhöhle werden neben dem Peritoneum und den mesenterialen Lymphdrüsen besonders die lymphoiden Organe des ganzen Organismus, also Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark für die Antikörperproduktion in Betracht kommen. Man könnte sich nun vielleicht, zur Erklärung der obenerwähnten Tatsache, einfach mit der Annahme beruhigen, daß die verschiedenen antikörperbereitenden Organe eben von vornherein verschieden averse Antikörper produzieren und daß aus diesem Grunde die subkutane Immunisierung andere Resultate liefert als die peritoneale. Es scheint mir aber, daß neben dieser Möglichkeit, die ja gewiß nicht auszuschließen ist, noch ein anderer Umstand in Betracht kommt, der vielleicht noch besser und ohne eine besondere Hilfsannahme nötig zu machen, geeignet erscheint, eine befriedigende Erklärung der Beobachtungstatsachen zu liefern.

Halten wir nämlich an der eben dargelegten Anschauung fest, daß bei der intraperitonealen Injektionsweise der ganze Organismus bzw. große Gewebsgebiete desselben zur Antikörperproduktion herangezogen werden, während diese Leistung bei der subkutanen Immunisierung mit nicht zu großen Antigendosen auf ein relativ enges Territorium beschränkt bleibt, so lassen sich daraus folgende Schlüsse ableiten. Was zunächst die Quantität der gelieferten und an das Blut abgegebenen Antikörper betrifft, so ist klar, daß hier die peritoneale Immunisierungsmethode der subkutanen bei weitem überlegen sein muß. Der Titer wird also bei den intraperitoneal gespritzten Tieren, die in ausgedehnten Gewebsterritorien Antikörper produzieren, ein höherer sein, als bei den subkutan behandelten, bei welchen nur wenige Organe in Aktion treten.

Ganz anders dagegen werden sich die Aviditäten verhalten müssen. Bei den peritoneal immunisierten Kaninchen wird sich das Antigen im ganzen Organismus verteilen, das einzelne Gewebe demgemäß nur einen relativ gering-

fügigen Bruchteil der eingebrachten Antigenmenge zugeführt erhalten und es wird daher der antigenetische Reiz im ganzen ein relativ geringer sein. Da sich dabei die Resorption der eingespritzten Bakterien sehr rasch abspielt, so werden also die Antikörper erzeugenden Organe in diesem Falle gewissermaßen nur einem einmaligen, kurzdauernden ictus immunisatorius ausgesetzt. Die ins Unterhautbindegewebe eingeführten Antigene dagegen werden sich zunächst nur auf die umliegenden Gewebe und auf die regionären Lymphdrüsen verteilen und in diesem daher ceteris paribus eine relativ hohe Konzentration erreichen. Ueberdies wird dabei infolge des langsamen Verlaufes der Resorptionsvorgänge die Einwirkung der Antigene auf die antigenetisch wirkenden Organe eine längerdauernde sein, die Gewebe werden längere Zeit hindurch fortwährend durch neue Antigennachschübe zur Antikörperproduktion gereizt werden und infolgedessen zu einer lebhaften Tätigkeit angespornt werden, die sich, wie wir ja wissen, in einer höheren Avidität der gelieferten Produkte äußert.

Mit anderen Worten: die Antikörperproduktion wird ihrer Intensität nach bei den subkutan gespritzten Tieren die höhere sein müssen, und diese werden daher die höheren Affinitäten bei ihren Antikörpern aufweisen. Da jedoch die Extensität des Bildungsvorganges der Antikörper bei den Subkutantieren eine relativ geringe ist und sich derselbe auf wenige und wenig umfangreiche Organe beschränkt, so wird trotzdem die Menge der gebildeten Antikörper bei den peritoneal behandelten Tieren die größere sein müssen, der Serumtiter also bei ihnen, trotz der geringen Avidität der Produkte, ein höherer sein.

Diese Erwägungen führen uns nun noch einen Schritt weiter. Wie bei zwei verschiedenen Versuchstieren je nach der Art der Immunisierung verschiedene Zellterritorien und in verschiedener Weise und Intensität für die Antikörperproduktion beansprucht werden, so wird etwas ähnliches auch bei ein und demselben Tier in verschiedenen Phasen der Immunisierung möglich sein, mit

anderen Worten, es wird sich der Schauplatz der hauptsächlichsten antigenetischen Tätigkeit aus gewissen Organen in andere verschieben können. Es ist ja bekannt, daß bei lange fortgesetzter Immunisierung die Versuchstiere schließlich vollkommen die Fähigkeit einbüßen können, Antikörper zu produzieren. Was hier für den Gesamtorganismus beobachtet wurde und Gültigkeit hat, wird wohl zweifellos auch für die einzelnen Organe angenommen werden dürfen, so daß also möglicherweise in einer Phase der Immunisierung vorher intensiv an der Produktion der Antikörper beteiligte Organe die Tätigkeit (infolge Uebermüdung? Rezeptorenschwund?) einstellen.

Fahren die übrigen Organe in unverändertem Tempo fort, Antikörper zu erzeugen, so wird also der Titer infolge der Einschränkung der produzierenden Zellterritorien absinken. Wie sich dabei die Aviditätskurve verhalten wird, dies ist, je nach den verschiedenen Umständen des gegebenen Falles, verschieden. Waren diejenigen Organe, welche ihre Tätigkeit eingestellt haben, die Produzenten gerade der höchstaviden Antikörper, bleiben also nur langsam und träge arbeitende und daher auch nur Produkte geringer Avidität liefernde Organe in ihrer Tätigkeit erhalten, so muß auch die Aviditätskurve rapid sinken. Waren dagegen die ihren Dienst versagenden Organe solche, die keine besonders hochaviden Produkte geliefert haben, so daß sich also noch immer genügende Organgebiete vorfinden, die sehr avide Antikörper erzeugen, dann braucht die Gesamtavidität keine wesentliche Verminderung zu erfahren und wir werden daher Sinken des Titers bei gleichbleibenden durchschnittlichen Aviditäten beobachten können. Werden aber nunmehr infolge des Ausfalles eines Teiles der Bildungsstätten der Antikörper neue, bisher nicht beteiligte Organe zur Produktion herangezogen, so werden diese zunächst — wie wir dies ja bei der Immunisierung des Gesamtorganismus gesehen haben — wenig avide Produkte liefern, die somit die Gesamtavidität im Serum herabdrücken werden, während der Titer unverändert bleiben kann oder auf die frühere Höhe und darüber ansteigt. Erst im weiteren Verlauf der Immunisierung, wenn

auch die neuen Organe gelernt haben, avide Antikörper zu erzeugen, wird sich dann die Durchschnittsavidität des Serums wieder heben.

Es ist klar, daß derartige Vorgänge den Parallelismus zwischen Titerkurven und Aviditätskurven wesentlich beeinträchtigen müssen, daß diese Störungen aber besonders nach längerer Immunisierung sich einstellen werden. In der Tat hat denn auch Busson die Beobachtung gemacht, daß nach einer ersten Phase der Immunisierung, in welcher der gedachte Parallelismus sehr befriedigend in Erscheinung tritt, dann eine Periode zu verzeichnen ist, in der wiederholte und scheinbar unmotiviert Störungen desselben, Kreuzung der Kurven usw. auftreten.

Aber noch andere Tatsachen können von diesem Gesichtspunkte aus einem Verständnis nähergebracht werden. In seiner früheren Aviditätsarbeit hatte Busson mitgeteilt, daß 2 seiner Versuchstiere (I und II) sich durch auffallend hohe Aviditäten bei relativ niedrigem Titer auszeichneten derart, daß bei graphischer Darstellung die Aviditätskurven oberhalb der Titerkurven verliefen, während bei anderen Tieren das Verhältnis das umgekehrte war. Außerdem fand sich bei diesen beiden Tieren, daß der Gipfel der beiden Kurven schon nach der vierten Einspritzung erreicht wurde, während die Kurven bei den anderen Kaninchen bis zur achten Injektion einen steigenden Verlauf zeigten. Wir hatten die Tatsachen damals unter anderem durch die Ueberlegung zu erklären versucht, daß ein Tier, das infolge seiner individuellen Veranlagung von vornherein hochavide Antikörper produziert, infolge der größeren antigenneutralisierenden Kraft derselben früher zum Stillstand in der Produktion der Antikörper kommen muß als ein anderes Tier, das zunächst nur wenig avide Immunkörper liefert.

Nach unseren früheren Ausführungen liegt es nun aber nahe, sich den Zusammenhang der Phänomene noch in anderer Weise zurechtzulegen. Wie die subkutan gespritzten Tiere Rintels zeigten die zwei erwähnten Kaninchen Bussons niederen Titer bei relativ hoher Avidität.

Stellt man z. B. die mittleren Absorptionsquotienten nebeneinander, die bei den Tieren I und II und bei den übrigen

Kaninchen Bussons gewonnen worden waren, so ergibt sich die folgende kleine Tabelle.

Absorptionsquotienten.

	Titer von 1000—10 000	Titer von 10 000—40 000
Kaninchen I und II	0,51	0,75
„ III „ IV	0,23	0,47

Nun ist es ja durch mannigfaltige experimentelle Erfahrungen hinlänglich bekannt, daß manche Tiere bei der Immunisierung nur sehr schwach reagieren und daher nicht zu brauchen sind, wenn es sich um Herstellung hochwertiger (z. B. eiweißpräzipitierender) Sera handelt. Man wird wohl annehmen müssen, daß die antikörperbereitenden Organe solcher Tiere aus irgendwelchen Gründen (mangelndes Bindungsvermögen?) nicht imstande sind, den antigenetischen Reiz in der normalen Weise mit kräftiger Antikörperproduktion zu beantworten. Was wir nun eben, durch die Beobachtungstatsachen gedrängt, für die Gesamtorgane solcher refraktären Tiere annehmen mußten, wird sich wohl auch, ohne allzu große Willkürlichkeit, bei anderen Versuchstieren von einzelnen Organen behaupten lassen. Mit anderen Worten, es ist vorauszusehen, daß es Tiere geben wird, bei welchen gewisse Organe, wenn auch nicht geradezu, unfähig erscheinen, in normaler Weise Antikörper zu produzieren, so doch nur sehr träge arbeiten, während die anderen Gewebe sogar in gesteigertem Maße auf die Einverleibung von Antigen reagieren. Da solche Tiere ganz ähnlich, wie wir dies bei den subkutan immunisierten Tieren dargelegt haben, nur in relativ beschränkten Zellterritorien Antikörper erzeugen, so wird der Serumtiter bei ihnen im allgemeinen keine sehr hohen Werte annehmen. Da aber andererseits unserer Voraussetzung nach die wenigen aktiven Organe dieser Tiere um so intensiver arbeiten, wird die Avidität der gelieferten Produkte eine relativ sehr bedeutende sein müssen. Da endlich bei fortgesetzter Immunisierung diese schon von Anfang an angestrengt arbeitenden Organe relativ früh bei dem Maximum ihrer möglichen Leistung anlangen werden, so wird also auch der Gipfel der Titer- und Aviditätskurven bei solchen Tieren

schneller erreicht werden als bei anderen, bei welchen größere Zellgebiete, aber dafür weniger intensiv tätig sind. Damit sind aber die Bussonschen Beobachtungen in, wie mir scheint, ziemlich einfacher Weise erklärt, wenn auch die Grundlage dieser Erklärung freilich als hypothetisch bezeichnet werden muß.

Es läßt sich diese Betrachtungsweise nun aber, wie mir scheint, in fruchtbarer Weise auch auf eine Reihe weiterer Versuche Bussons anwenden, die sich mit dem Verhalten von Titer und Avidität bei der Revaccination befassen und über die er in der nachstehenden Arbeit mit Rintelen berichtet.

Diese Versuche haben ein sehr interessantes Ergebnis gehabt: Jene Versuchstiere nämlich, welche von vornherein, bei der Erstimmunisierung mit hohen Aviditäten der Antikörper eingesetzt hatten, zeigten längere Zeit nach dem Aufhören der Antigenezufuhr sehr niedere Absorptionsquotienten, die jedoch nach erfolgter Revaccination wieder mächtig in die Höhe geschneit waren. Ganz entgegengesetzt war dagegen das Verhalten bei der anderen Gruppe (II) von Tieren. Der zuerst hier beobachteten niederen Avidität waren nach Ablauf der Erstimmunisierung hohe Quotienten gefolgt; nach der Revaccination hingegen fanden sich wieder auffallend niedrige Werte. Es wurde also mit anderen Worten ein ganz gesetzmäßiger Wechsel zwischen hohen und niedrigen Aviditätsgraden beobachtet, der aber bei den beiden Gruppen von Tieren in entgegengesetztem Sinne erfolgte.

Die folgende kleine Tabelle läßt diese Tatsache sehr deutlich erkennen.

Mittelwerte der Absorptionsquotienten.

	Erste Immunisierung			Revaccination	
	nach der zweiten Injektion	Höchstwert bei der Erstimmunisierung	Endwert nach der Erstimmunisierung	Höchstwert bei der Revaccination	ca. 60 Tage nach der Revaccination
Gruppe II	0,16	0,85	0,54	0,53	0,0
Gruppe I	0,62	0,85	0,14	0,67	0,77

Wir wollen versuchen, wie sich diese merkwürdigen Tatsachen an der Hand der früher dargelegten Prinzipien und Ueberlegungen deuten lassen.

Betrachten wir zuerst jene Gruppe von Tieren, die bei der Erstimmunisierung zunächst nur Antikörper von niedriger Avidität geliefert hatten (Gruppe II). Wie waren im vorigen zu der Auffassung gelangt, daß diese Tiere auf die Antigenzufuhr nur mit einer geringen Antikörperproduktion antworten, die sich aber auf ausgedehnte Zellterritorien erstreckt, wodurch die niedrigen Aviditäten bei hohem Titer ihre Erklärung finden. Im weiteren Verlauf der Immunisierung werden aber gewisse Organe zu immer intensiverer Antikörperproduktion herangezogen werden, so daß die Avidität der von ihnen gelieferten Produkte wesentlich steigt; andere Organe werden dagegen hinter ihnen in der Intensität ihrer Tätigkeit zurückbleiben, und somit auch relativ wenig avide Antikörper erzeugen. Immerhin wird die Durchschnittsavidität aber eine hohe sein und dieses Verhältnis wird auch noch längere Zeit nach Aufhören der Antigenzufuhr bestehen bleiben. Erfolgt nun aber die Revaccination, so werden diejenigen Organe, welche durch die Erstimmunisierung am stärksten in Anspruch genommen worden waren, auch durch die neuerliche Antigenzufuhr am stärksten zur Antikörperproduktion gereizt werden: so lange, bis sie endlich ermüden und ihre Tätigkeit einstellen. Dann bleiben also nur mehr jene Organe tätig zurück, welche auch bei der Revaccination nur eine wenig lebhafte Produktion entfaltet hatten und nur wenig avide Produkte liefern: die Avidität wird somit nach Ablauf der Revaccination eine niedrige sein müssen.

Anders bei der zweiten Gruppe von Versuchstieren (Gruppe I). Diese antworten auf die Antigenzufuhr nach unserer früher dargelegten Anschauung mit einer zwar außerordentlich lebhaften Antikörperproduktion, die sich jedoch nur auf einzelne wenige Organe erstreckt, während die übrigen nur eine geringe Tätigkeit entfalten. Daher hohe Durchschnittsavidität bei niedrigem Titer. Im Verlauf der fortwährenden Antigenzufuhr bei der Erstimmunisierung werden diese wenigen aber intensiv tätigen Organe relativ bald überanstrengt, sie werden ihre Tätigkeit infolge Ermüdung ein-

stellen und versagen. Nur die übrigbleibenden, wenig aktiven Organe liefern in diesem Stadium noch Immunprodukte, die dementsprechend auch geringe Avidität zeigen. Erfolgt nun aber die Revaccination, so werden diese zuerst trägen Organe, die schon durch die Erstimmunisierung zu etwas lebhafterer Tätigkeit gezwungen worden waren, zu immer stärkerer Antikörperproduktion angespornt, und schließlich auch hochavide Immunkörper liefern. Mit anderen Worten, diese Tiere der Gruppe I verhalten sich nach der Erstimmunisierung, nach Ausschaltung der besonders aktiven Zellterritorien, ähnlich wie die Tiere der anderen Gruppe vor derselben: sie besitzen Organe, die mit einer gewissen Trägheit Antikörper produzieren und infolgedessen bei der Immunisierung nicht leicht zu ermüden sind, weshalb sie bei der Revaccination allmählich doch noch hochavide Produkte liefern. Die Tiere der Gruppe II dagegen, die von vornherein nur über träg reagierende Organe verfügten, werden nach der Erstimmunisierung, die einer Trainingung gleichkommt, in gewissen Zellterritorien besonders lebhaft Produktionsstätten der Antikörper besitzen, die jedoch infolgedessen bei der Revaccination ermüden; sie werden sich also so verhalten wie die Tiere der Gruppe I vor der Erstimmunisierung.

Hieraus läßt sich aber noch eine andere von Busson und Rintelen gemachte Beobachtung ableiten. Wie früher auseinandergesetzt, sind es besonders die Uebermüddungserscheinungen im Verlauf der Immunisierung, die geeignet sind, den Parallelismus von Titerkurven und Aviditätskurven zu stören. Da es nun aber bei der Revaccination nach unserer eben dargestellten Auffassung nur bei Gruppe II zu solchen Ermüddungserscheinungen kommt, so wäre zu erwarten, daß auch nur bei dieser Gruppe eine deutliche Inkongruenz von Titer und Avidität zu beobachten wäre, während bei Gruppe I in der Revaccinationsperiode vollkommener Parallelismus bestehen mußte, eine Schlußfolgerung, die tatsächlich mit den Befunden von Busson und Rintelen übereinstimmt. Daß diese Ermüddungsphänomene dabei bei der Revaccination viel deutlicher in Erscheinung treten als bei Erstimmunisierung, ist wohl auch ohne weiteres verständlich.

Aber nicht nur für die Verhältnisse des Tierexperiments scheinen diese und ähnliche Betrachtungen ein fruchtbares Erklärungsprinzip abzugeben, auch auf die menschliche Pathologie dürften dieselben unter Umständen Anwendung finden können.

Sehr interessante Resultate ergeben sich nämlich in dieser Richtung, wenn man die von Rintelen am typhuskranken Menschen gewonnenen Ergebnisse, die Titer- und Aviditätszahlen, nach der Schwere der Erkrankungsfälle zusammenstellt. Für Serumtiter zwischen 100 und 1000 A.-E. fand sich nämlich folgendes Verhalten.

Durchschnittswerte.

Schwerer Typhus		Leichter Typhus	
Titer	Quotient	Titer	Quotient
324	0,8	513	0,35

Obwohl also die schweren Fälle durchschnittlich sogar einen niedrigeren Titer hatten als die leichten, waren doch bei ihnen die Absorptionsquotienten und somit die Avidität der im Blute kreisenden Antikörper eine ganz bedeutend höhere. Auch hier begegnen wir also dem bereits mehrfach erörterten Phänomen der hohen Avidität bei relativ niedrigem Titer. Und auch hier werden wir vielleicht zur Erklärung ganz ähnliche Verhältnisse annehmen dürfen wie dort: denn es ist ja nicht unwahrscheinlich, daß bei der schweren Typhuserkrankung bestimmte Organe durch die Typhustoxine und Endotoxine bzw. andere im Verlauf des Infektionsprozesses auftretende Momente derart geschädigt werden, daß sie für die Antikörperproduktion nicht in Betracht kommen, während die in dieser Beziehung noch gut funktionierenden Gewebe um so lebhafter arbeiten und um so avidere Produkte liefern, ohne jedoch in quantitativer Hinsicht den Ausfall decken zu können.

II. Ueber das Verhalten von Agglutinationstiter und Avidität in den späteren Stadien der Immunisierung und bei der Revaccination mit Typhusantigen.

Von

Dr. phil. et med. **Bruno Busson**, und **Dr. August Rintelen**,
Assistent am Hygienischen Institut Assistent an der medizinischen
in Graz. Klinik in Graz.

Mit 23 Kurven im Text.

I.

In systematischer Verfolgung der Immunisierungsphasen am einzelnen Tiere konnte Busson den Nachweis erbringen, daß der Zusammenhang zwischen Agglutinationstiter und Avidität im Sinne P. Th. Müllers ein auffallend inniger ist und daß nicht bloß im Steigen, sondern auch im Fallen beider Werte ein Parallelgehen derselben in Erscheinung tritt.

Andererseits aber zeigten die einzelnen Versuchstiere größere individuelle Verschiedenheiten, sowohl was die Qualität als auch die Quantität der produzierten Antikörper betrifft.

Denn wenn auch alle Versuchstiere im allgemeinen ein und derselben Gesetzmäßigkeit folgten, so war doch die Reaktion auf den gesetzten Eingriff individuell verschieden, woraus sich vor allem ebenfalls wieder eine Bestätigung für die Angaben Müllers ergab, daß Sera von gleichem Titer sehr verschiedene Aviditäten aufweisen können.

Es zeigte sich ferner bei forciert, d. i. unter täglicher Antigenzufuhr durchgeführter Immunisierung, daß der Zusammenhang der Titer- und Aviditätswerte während der Dauer des Reizes eine Störung erleidet und daß die gesetzmäßige Abhängigkeit beider Werte voneinander erst mit dem Aussetzen der Antigenzufuhr wieder in Erscheinung tritt.

Als nach Publikation dieser Arbeit¹⁾ Busson die Untersuchungen, zum Teil an denselben Versuchstieren, fortsetzte, begegnete er nunmehr einer Divergenz beider Werte, welche

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. VII.

bisher gleichsinnig abgefallen waren; die Kurven begannen sich zu überkreuzen resp. zu divergieren.

Wir konnten uns diese von den bisherigen Beobachtungen abweichende Erscheinung zunächst nur durch eine Ueberanstrengung des Organismus deuten, weshalb wir den Tieren eine mehrmonatliche Ruhepause gaben, um möglichst die normalen Verhältnisse wiederkehren zu lassen.

Nachdem wir dann durch spätere zeitweilige Blutentnahme stationäre Verhältnisse festgestellt hatten, begannen wir unsere eigentlichen Studien über das Verhalten von Titer und Avidität bei der Revaccination.

Es war ja immerhin denkbar, daß sich die Verhältnisse beider Werte bei der Revaccination ganz anders verhalten könnten als bei der Erstimmunisierung.

Die Technik, die wir bei unseren Untersuchungen angewendet haben, ist sich gegen früher gleich geblieben.

Auch diesmal haben wir versucht, durch graphische Darstellung die Ergebnisse unserer Versuche anschaulicher zu gestalten, und zwar in derselben Weise, wie es Busson in seiner vorstehenden Arbeit getan hat.

Wir möchten jedoch gleich eingangs betonen, daß die graphische Darstellung in dem einen oder anderen Falle insofern eine Abänderung erleiden mußte, als die zugrunde gelegten Maßstäbe nicht für alle Kurven einheitlich die gleichen sein konnten. Vielmehr mußten sie den beim einzelnen Tiere im Verlaufe der Immunisierung erreichten Titerhöhen jeweils angepaßt werden.

So ist z. B. gleich anfangs bei der graphischen Darstellung der beiden im folgenden besprochenen „stationären Phasen“ eine andere Einteilung zugrunde gelegt worden, als dies zur Wiedergabe der späteren Versuche desselben Tieres geschah.

Denn in den stationären Phasen, wo die Titerhöhen nur einige hundert Agglutinineinheiten betragen, die im Laufe der Immunisierung zu einem hundertfach Vielfachen anwachsen, würden bei gleichem Maßstab der Kurve Schwankungen des Titers überhaupt nicht zum Ausdruck kommen und daher ein ganz falsches Bild entstehen.

Für die Versuche selbst verwendeten wir dieselben sechs Versuchstiere, an welchen Busson seine Aviditätsstudien (l. c.)

gemacht hatte, ferner 2 Hasen aus früheren Versuchen Paul Th. Müllers, die er uns in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte.

Alle Tiere waren mit Typhusantigen vorbehandelt und durch mehrere Monate nach der letzten Injektion sich selbst überlassen worden. Diese Pause betrug bis zur neuerlichen Injektion bei den einzelnen Versuchstieren: No. 1: über 3 Monate, No. 2: 7 Monate, No. 3: über 3 Monate, No. 5: 1 Jahr, No. 7: 6 Monate, No. 8: $5\frac{1}{2}$ Monate, No. 9: 7 Monate, No. 10: $5\frac{1}{2}$ Monate.

Wir suchten zunächst durch Entnahme von Blutproben in gewissen Zeitabständen festzustellen, ob die Produktion resp. die Menge der jeweils im Blute vorhandenen Antikörper quantitativ und qualitativ bereits in eine stationäre Phase eingetreten seien.

Erst dann, wenn zwei im Zeitintervall von 8—10 Tagen entnommene Blutproben annähernd dieselben Resultate ergeben hatten, wurde mit der neuerlichen Antigenezufuhr begonnen. Es ist jedoch selbstverständlich, daß eine absolut „stationäre Phase“ im strengen Sinne überhaupt nicht existieren kann, sondern daß vielmehr Titer und Aviditätswerte durch jeweilige Stoffwechselvorgänge im Organismus selbst gewissen Schwankungen unterliegen werden.

Die vorliegenden Kaninchen boten uns dabei die willkommene Gelegenheit, die Größe dieser spontanen Schwankungen kennen zu lernen, was ja auch für die Beurteilung der Genauigkeit unserer bisherigen Versuchsergebnisse von Bedeutung ist.

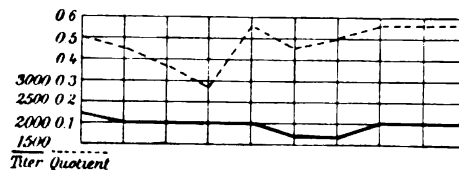
Die hierbei gewonnenen Resultate lieferten den wertvollen Beweis, daß die spontanen „Schwankungen“ keine derartig großen sind, um die aus früheren Versuchen gezogenen Schlüsse wesentlich zu beeinflussen.

Busson hat an zwei Versuchstieren (No. 5 und 9) je 10 Blutproben innerhalb der sogenannten „stationären Phase“ untersucht.

Betrachten wir zunächst die Ergebnisse bei Versuchstier No. 5.

Hase No. 5. Zahlentabelle 1.

Tag der Blutentnahme	Agglutinineinheiten des Vollserums resp. Titerhöhe	Agglutinineinheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
26. X.	250	250	0,63
3. XI.	222	222	0,50
13. XI.	333	333	0,63
16. XI.	333	333	0,63
26. XI.	222	222	0,50
29. XI.	200	200	0,54
7. XII.	250	250	0,68
16. XII.	250	250	0,60
28. XII.	250	250	0,63
11. I.	250	250	0,68



Kurve 1. Hase No. 5.

Wir finden hier bei sehr niedrigem Titer eine relativ hohe Avidität; die Durchschnittswerte betragen 256 und 0,60.

Betrachten wir die Kurve 1, so sehen wir ein fast völliges Parallelgehen im Ansteigen und Fallen von Titer und Avidität. Die auf der Kurve so deutlich zum Ausdruck gebrachten Schwankungen sind jedoch in Wirklichkeit ziemlich gering, wie ein Vergleich mit der Zahlentabelle lehrt.

Da also während der Beobachtungszeit von 77 Tagen die beiden Werte im allgemeinen nur geringe Schwankungen aufweisen, kann man hier mit Recht von einer „stationären Phase“ sprechen. Produktion und Zerstörung der Antikörper halten sich im Gleichgewichte.

Um die Größe der Schwankungen zu ermitteln, ziehen wir zunächst die Differenz des höchsten gefundenen Wertes und des Mittelwertes, ferner zwischen diesem und dem niedrigsten Werte sowohl der Titer als auch der Quotienten. So erhalten wir die Schwankungen, die nach auf- und abwärts vom Mittelwerte stattfinden.

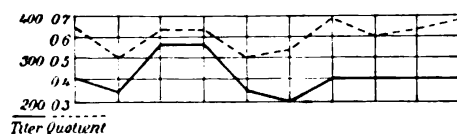
Titermittelwert	256	Differenz:	
Gefundener Höchstwert	333	Maximum-Mittelwert	77
„ Mindestwert	200	Mittelwert-Minimum	56
Aviditätsmittelwert	0,60	Differenz:	
Gefundener Höchstwert	0,68	Maximum-Mittelwert	0,08
„ Mindestwert	0,50	Mittelwert-Minimum	0,1

Wir ersehen daraus, daß die Schwankungen keine so beträchtlichen sind, daß ihnen irgendwelche wesentliche Bedeutung auf den Ausfall unserer Versuche zukommt, da es sich ja bei diesen um weitaus größere Titer- und Aviditätsunterschiede handelt.

Bei den Ergebnissen des zweiten Versuches (Hase No. 9, Tabelle 2) begegnen mir einmal einer aus der Reihe springenden Zahl, deren Ursache wir vielleicht lediglich auf Vorgänge im Organismus selbst (s. oben) zurückführen dürfen, da die übrigen 9 Untersuchungsergebnisse in guter Uebereinstimmung sowohl untereinander stehen als sich auch mit den Resultaten der vorstehenden Versuchsreihe decken. Aber immerhin könnte auch ein durch die Technik bedingter Versuchsfehler vorliegen oder in die Schwankung mit eingeschlossen sein.

Hase No. 9. Zahlentabelle 2.

Tag der Blutentnahme	Agglutinineinheiten des Vollserums resp. Titerhöhe	Agglutinineinheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
26. X.	2222	555	0,50
3. XI.	2000	500	0,45
13. XI.	2000	500	0,37
16. XI.	2000	500	0,27
26. XI.	2000	500	0,56
29. XI.	1666	414	0,46
7. XII.	1666	555	0,50
16. XII.	2000	500	0,56
28. XII.	2000	500	0,56
11. I.	2000	500	0,56



Kurve 2. Hase No. 9.

Titermittelwert	1950	Differenz:	
Gefundener Höchstwert	2222	Maximum-Mittelwert	272
„ Mindestwert	1666	Mittelwert-Maximum	284
Aviditätsmittelwert	0,47	Differenz:	
Gefundener Höchstwert	0,56	Maximum-Mittelwert	0,09
„ Mindestwert	0,27	Mittelwert-Minimum	0,20

Wir sehen also in beiden Fällen ungefähr dieselben Schwankungsgrößen wiederkehren, wozu wir nur noch be-

merken möchten, daß ein einziger Blick auf die beiden Zahlentabellen 1 und 2 zeigt, wie gering in Wirklichkeit die Abweichungen der gefundenen Zahlen untereinander sich darstellen.

II.

Wenn wir nun daran gehen, die Ergebnisse der eigentlichen Versuche an den revaccinierten Tieren selbst zu betrachten, so fällt uns vor allem ein Unterschied auf, der sich darin äußert, daß die bei den einzelnen Tieren in der annähernd „stationären Phase“ ermittelten Aviditätswerte verschieden große sind. Wir haben einmal Tiere mit verhältnismäßig hohen (Hasen No. 2, 5, 7 und 9, siehe Zahlentabellen und Kurven 12, 13, 14, 15, Uebersichtstabelle II) und einmal solche mit niedrigem Quotienten (Hase No. 1, 3, 8 und 10, siehe Zahlentabellen und Kurven 8, 9, 10, 11) vor uns.

Daraus ergibt sich zunächst von selbst eine Teilung unserer 8 Versuchstiere in zwei Gruppen.

Jede der erwähnten beiden Gruppen weist aber noch eine andere charakteristische Eigentümlichkeit auf. Nach der Revaccination, ca. 2 Monate nach der letzten Injektion¹⁾, zeigte sich, daß bei derjenigen Gruppe von Tieren, bei welchen in der „stationären Phase“ hohe Quotienten gefunden wurden, nunmehr ein Abfall der Avidität auf 0 eingetreten war (Hase No. 2, 5, 7 und 9, Kurve 20, 21, 22, 23, Uebersichtstabelle II), während bei der zweiten Gruppe, die vor der Revaccination niedrige Quotienten aufgewiesen hatte, nunmehr hohe Aviditätswerte vorhanden waren (Hase No. 1, 3, 8 und 10, Kurven 16, 17, 18, 19, Uebersichtstabelle II).

Da nun bei 6 der Versuchstiere, nämlich bei jenen, welche Busson seinerzeit für seine Aviditätsstudien immunisiert hatte, die immunisatorische Vorgeschichte genau bekannt war, so war es möglich, die eben besprochenen Resultate mit den Ergebnissen der Erstimmunisierung zu vergleichen. Dieser Vergleich führte zu folgenden interessanten Ergebnissen und daran schließenden Ueberlegungen.

1) Es wurden später keine Blutproben mehr entnommen, weil ein Feil der Tiere erschöpft war, und diese uns sicherlich keine natürlichen Verhältnisse mehr dargeboten hätten.

Nachdem Busson bei seinen erstimmunisierten Tieren gefunden hatte, daß sie den gesetzten Reiz insofern verschieden beantworteten, als eine Gruppe von Tieren gleich anfangs sehr hochavide Antikörper produzierte und frühzeitig die Maximalhöhe erreichte, während die zweite Gruppe sich gegenteilig verhielt, ließ sich nunmehr feststellen, daß sich die charakterisierenden Merkmale unserer beiden Gruppen sogar bis auf den Anfang der Erstimmunisierung zurückleiten lassen.

Beide Gruppen weisen nämlich während allen Phasen der Immunisierung und Revaccination ein jeder Gruppe charakteristisches Verhalten auf, dem ein und dieselbe Gesetzmäßigkeit zugrunde zu liegen scheint.

Dieses verschiedene Verhalten der beiden Gruppen bezieht sich zunächst nur auf die Absorptionsquotienten, also auf die Qualität der in den einzelnen Phasen vorhandenen Antikörper.

Uebersichtstabelle I.

	I. Gruppe	II. Gruppe
I. Erstimmunisierung (Beginn)	hohe Avidität	niedrige Avidität
II. Abklingen der Erstimmunisierung	niedrige Avidität	hohe Avidität
Stationäre Phase	niedrige Avidität	hohe Avidität
III. Revaccination	zunehmende Avidität	gleichbleibende Avidität
IV. Abklingen der Revacc. und stationäre Phase	hohe Avidität	niedrige Avidität

Uebersichtstabelle Ia.

	Erstimmunisierung	Höchstwert während der Imm.	Abklingen der Imm.	Stationäre Phase	Höchstwert während d. Revacc.	Stationäre Phase nach der Revacc.
I. Gruppe	0,62	0,85	0,45	0,14	0,67	0,77
II. Gruppe	0,16	0,85	0,82	0,54	0,53	0

Wir haben nach dieser schematischen Darstellung vier größere Perioden zu unterscheiden, von denen uns hier zunächst nur diejenigen Phasen interessieren, bei denen ein ausgesprochener Wechsel der Aviditätswerte zum Ausdruck kommt, also Phase 1, 2 und 4.

Die dritte Phase, das Verhalten der Aviditätswerte und Titer während der Revaccination, bedarf einer getrennten eigenen Besprechung.

Das Abklingen der Erstimmunisierung und die sich daran schließende „stationäre Phase“ sind nur zeitliche Abschnitte einer und derselben Immunisierungsperiode, werden daher als eine zusammengefaßt.

Aus dieser schematischen Uebersichtstabelle ersehen wir, daß bei unseren Versuchen eine Gruppe von Hasen (Gruppe I) den ersten Reiz zur Neuproduktion (Erstimmunisierung) gleich anfangs (2. Injektion) mit der Produktion hochavider Antikörper beantwortet. Nach Fortfall des Reizes erscheint die Produktion hochavider Antikörper eingestellt zu sein, im Blute zirkulieren weniger avide Immunkörper (stationäre Phase).

Unter der Reizwirkung neuer Antigenezufuhr (Revaccination) jedoch scheint die bisher eingestellte Produktion der hochaviden Antikörper wieder geweckt worden zu sein, ja sie überdauert sogar die Revaccination, und im Abklingen derselben finden wir wieder hohe Quotienten vor.

Es hat also innerhalb der drei natürlichen Perioden ein zweimaliger Wechsel der Aviditätswerte der produzierten Antikörper stattgefunden.

Eben derselbe Wechsel, nur im umgekehrten Sinne, findet sich bei der II. Gruppe von Versuchstieren. Die bei der Erstimmunisierung anfangs niedrige Avidität erfährt hier in der „stationären Phase“ eine beträchtliche Steigerung ihrer Werte, wogegen im Abklingen der Revaccination der Quotient nahezu auf 0 absinkt, also ein gerade Gegenteiliges Verhalten wie bei der I. Gruppe. Beide Gruppen unserer Versuchstiere weisen dieses konträre Verhalten, wodurch sie sich schon bei der Erstimmunisierung unterschieden hatten, auch weiterhin in allen Phasen auf, eine Gesetzmäßigkeit, deren Ursachen wir zunächst durch folgende Ueberlegungen dem Verständnis näher zu bringen suchen wollen.

Die erste auffallende Tatsache, welche sich bei den Bussonschen Erstimmunisierungsversuchen ergeben hatte, daß nicht alle Versuchstiere den antigenetischen Reiz gleichmäßig beantworten, sondern daß vielmehr ein Teil der Tiere mit der Produktion beträchtlich aviderre Antikörper einsetzt als

die übrigen, hatte damals zu verschiedenen Erklärungsversuchen geführt. Diese beruhten zum Teile auf der Annahme, daß individuelle Veranlagung bezw. verschiedene Anpassungsfähigkeit der einzelnen Tiere an den antigenetischen Reiz die Ursache dieser Erscheinung bilden könnte.

Bussón beobachtete ferner (l. c. p. 241), daß im Anschlusse an eine subkutan erfolgte Injektion gegenüber der sonst angewendeten peritonealen Einverleibung Titer und Avidität abfielen und kam dabei bei der Diskussion der verschiedenen Erklärungsmöglichkeiten zu der Ueberlegung, daß vielleicht bei der subkutanen Injektion andere Zellgebiete zur Produktion von Antikörpern herangezogen wurden, die, da sie zum ersten Male Antikörper lieferten, den Reiz nicht mit gleichqualifizierter Antikörperbildung beantworten, wie jene Gewebe, die bei der peritonealen Injektion angeregt worden waren.

Nun konnte Rintelen weiterhin, wie er in der nachstehenden Arbeit mitteilt, bei subkutaner und peritonealer Einverleibung des Antigens große Verschiedenheiten der sich ergebenden Titer und Aviditätswerte nachweisen.

Damit aber kommen wir zu einer Ueberlegung, die auch für unsere Ergebnisse eine gut passende Anwendung finden kann.

Wir können zunächst annehmen, daß die Bildungsstätten der Antikörper in verschiedenen Organen und Geweben gelegen sind und daß die verschiedenen Organe auf einen antigenetischen Reiz insofern verschieden antworten, als sie Antikörper von verschiedener Avidität produzieren.

Aber auch die Reizschwelle könnte bei den einzelnen Organen verschieden groß sein; gewisse Organe würden daher bei gleichem antigenetischen Reiz früher mit der Produktion von Antikörpern beginnen als die anderen.

Für beide Möglichkeiten sind aber individuelle Verschiedenheiten der einzelnen Versuchstiere zu erwarten.

Auch müssen wir annehmen, daß in allen Organen, die bereits zur Produktion angeregt worden sind, infolge von Anpassung oder Uebung eine Aviditätssteigerung der produzierten Antikörper stattgefunden haben muß.

Wir haben also in den verschiedenen Organen und Geweben Produktionsstellen verschieden avider Antikörper vor

uns, die je nach ihrer verschiedenen Reizempfindlichkeit den gesetzten Reiz verschieden beantworten werden.

Werden also vom ersten Reiz jene Organe getroffen, die hochavide Antikörper produzieren, dann begegnen wir auch einem hohen Anfangsquotienten, und umgekehrt, werden jene Organe zuerst zur Produktion herangezogen, die von vornherein wenig avide Produkteliefern, so wird der Anfangsquotient niedrig sein.

Die einzelnen Organe werden überdies verschiedene Mengen von Antikörpern zu produzieren vermögen. Dabei kann die absolute Menge der von einem Organe produzierten Antikörper von zwei Faktoren abhängig sein:

- 1) von der Raschheit, mit der die abgestoßenen Rezeptoren wieder erneuert werden, und
- 2) von der Zahl der an jeder Zelle vorhandenen Rezeptoren.

Wie können nun nach dem Vorstehenden unsere Ergebnisse, das Wechselspiel der Aviditätswerte in den einzelnen Phasen, erklärt werden?

Nehmen wir an, daß bei einem unserer Tiere der ersten Gruppe durch den gesetzten Reiz zunächst jene Organe betroffen werden, welche hochavide Antikörper produzieren, so tritt dies bei der Erstimmunisierung als hoher Anfangsquotient in Erscheinung. Jede weitere Antigenezufuhr wird eine Steigerung der Antikörperproduktion hervorrufen. Schließlich wird aber eine gewisse Ermüdung eintreten, der Reiz wird von den überanstrengten Zellpartien aber nicht mehr in vollem Maße bzw. gar nicht mehr beantwortet und das Antigen wirkt nun auf neue, noch nicht geübte Organe oder Organkomplexe ein. Da diese zunächst nur wenig lebhaft reagieren, so erklärt sich daraus zum Teile vielleicht der gleichsinnige Abfall von Titer und Avidität, der trotz fortgesetzter Antigenezufuhr zu beobachten ist.

Hört nun die Reizwirkung auf, so werden je nach dem quantitativen Verhältnis von Reizdauer einerseits und Ermüdung der betroffenen Organe andererseits die Titer- und Aviditätswerte verschiedene Höhe aufweisen.

War nun wie bei den Bussonschen Immunisierungsversuchen, der Reiz ein lange dauernder oder sehr intensiver

(forcierte Immunisierung), so müssen nach dem Gesagten die in der stationären Phase und im Abklingen der Immunisierung beobachteten Quotienten dann relativ niedrig sein im Vergleich zu den Anfangsquotienten, wenn diese hohe waren, und umgekehrt hohe sein, wenn sie zu Anfang niedrige waren. Noch deutlicher aber wird dieser Unterschied dann zum Ausdrucke kommen, wenn wir die absoluten Werte der Quotienten von beiden Gruppen unserer Versuchstiere in dieser Phase einander vergleichend gegenüberstellen werden (siehe Uebersichtstabelle II).

Wir haben nunmehr die „stationäre Phase“ vor uns, in der wir bei jenen Tieren, welche bei der Erstimmunisierung gleich anfangs hochavide Antikörper produzierten, nunmehr einen niedrigen Quotienten antreffen (siehe Uebersichtstabelle II).

Es überdauert also die Produktion jener Organe, die zuletzt gereizt resp. am wenigsten ermüdet wurden, weil sie eben den Reiz am spätesten aufgenommen haben und am wenigsten angestrengt wurden.

In unserem speziellen Beispiel sind es zugleich jene Organe, die weniger avide Antikörper produzieren.

Wirkt nun durch Revaccination ein neuer Reiz ein, dann stehen die gerade funktionierenden und zugleich durch den vorangegangenen Reiz am wenigsten ermüdeten Organe diesem am empfänglichsten gegenüber und sie werden zunächst den Reiz durch Produktion aviderer Antikörper so lange beantworten, bis auch sie infolge langdauernder oder zu großer Inanspruchnahme den fortgesetzten Reiz nicht mehr genügend beantworten können. Das Antigen wirkt nunmehr wieder auf die nächstempfänglichen Produktionsstellen, soweit diese reaktionsfähig geblieben sind und das sind in unserem Falle jene Organe, welche vorher ihre Produktion aus Ermüdung einstellten, nunmehr sich aber wenigstens teilweise erholen konnten. Je nach der stattgehabten Erholung wird uns dann auch im Abklingen der Revaccination bei sinkendem Titer eine relativ erhöhte Avidität begegnen müssen.

Die zweite Gruppe von Tieren, welche bei der Erstimmunisierung zu Anfang niedere Quotienten aufwies, muß zwar demselben Prinzip, aber in verkehrter Anordnung folgen.

Wir wollen versuchen, durch eine schematische Darstellung unseren Gedankengang kurz wiederzugeben. Bezeichnen wir die nach unserer Annahme für die Antikörperproduktion in Betracht kommenden Organe und wie sie im Laufe der Immunisierung bei der Produktion zeitlich, d. h. nach der Größe ihrer Reizschwelle aufeinander folgen, mit a, b und c und die zugehörigen Aviditäten mit x, y und z, so würde etwa folgendes Schema sich ergeben:

Immunisierung	$\left\{ \begin{array}{l} a \\ a + b \\ a + b + c \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} x \\ x + y \\ x + y + z \end{array} \right.$	
Abklingen der Immunisierung	$\left\{ \begin{array}{l} b + c \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} y + z \end{array} \right.$	
Stationäre Phase nach der Immunisierung	$\left\{ \begin{array}{l} c \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} z \end{array} \right.$	
	$\left\{ \begin{array}{l} b + c \\ a + b + c \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} y + z \\ x + y + z \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Revaccination} \\ \text{Abklingen der} \\ \text{Revaccination} \end{array} \right.$
	$\left\{ \begin{array}{l} a + b \\ a \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} x + y \\ x \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{stationäre Phase nach} \\ \text{der Revaccination.} \end{array} \right.$

Dieses Schema zeigt in einfacher Weise, wieso bei Funktionseinstellung der am stärksten gereizten Organe ein Aviditätswechsel zum Ausdruck kommen muß.

Wir wenden uns nun zunächst den Ergebnissen der einzelnen Versuche in den verschiedenen Phasen zu, wobei wir jedoch stets die Einteilung in die beiden Hauptgruppen beibehalten.

Gruppe I und II.

Die I. Gruppe wird von den Hasen No. 1, 3, 8 und 10 gebildet, sie haben untereinander gemeinsam

- 1) eine hohe Anfangsavidität bei der Erstimmunisierung (Uebersichtstabelle II),
- 2) eine niedrige Avidität in der „stationären Phase“,
- 3) Anstieg des Quotienten während der Revaccination,
- 4) im Abklingen der Revaccination einen hohen Quotienten.

Bei der II. Gruppe finden wir

- 1) niedrigen Anfangsquotienten (Uebersichtstabelle II),
- 2) hohe Avidität,

- 3) gleichbleibende Avidität während der Revaccination,
4) Absinken des Aviditätswertes auf \emptyset (Uebersichtstabelle II).

Das Abklingen der Erstimmunisierung wurde an 4 Tieren, und zwar bei zweien der I. Gruppe Hase 8 (M_{III})¹⁾ und 10 (M_{IV}) und zweien der II. Gruppe Hase 7 (W_I) und Hase 9 (M_I) durch ca. 2 Monate verfolgt. (Siehe Anhang: Gruppe I, Zahlentabelle und Kurve 4; Zahlentabelle und Kurve 5. Gruppe II, Zahlentabelle und Kurve 6; Zahlentabelle und Kurve 7.)

Uebersichtstabelle II.

Versuchstier	Wert des Anfangsquotienten	Höchstwert des Quotienten während der Immunisierung	Wert des Quotienten im Abklingen der Immunisierung	Wert des Quotienten in der stationären Phase	Höchstwerte in der Revaccination	Endwerte in der station. Phase nach der Revaccin.
I. Gruppe.						
Hase No. 1	0,50	0,78	—	0,20	0,85	0,80
" " 3	0,60	0,94	—	0,13	0,80	0,70
" " 8	0,80	0,83	0,46	0,12	0,60	0,60
" " 10	0,60	0,86	0,45	0,12	0,45	0,90
Durchschnittswerte	0,62	—	—	0,14	—	0,77
II. Gruppe.						
Hase No. 2	—	—	—	0,45	0,46	\emptyset ²⁾
" " 5	—	—	—	0,68	0,63	\emptyset ²⁾
" " 7	0,20	0,85	0,92	0,50	0,69	\emptyset ²⁾
" " 9	0,12	0,86	0,73	0,56	0,36	\emptyset ²⁾
Durchschnittswerte	0,16	—	—	0,55	—	\emptyset

Die Unterschiede im Verhalten der beiden Gruppen sind so auffallend und prägen sich sowohl in den Kurven als auch in den Zahlentabellen so deutlich aus, daß wir uns mit dem Hinweise auf diese und auf die in der Uebersichtstabelle II zum Ausdruck kommenden Durchschnittsdifferenzen begnügen

1) Die in der Klammer beigefügten Bezeichnungen entsprechen den betreffenden Versuchstieren der zitierten Bussonschen Arbeit.

2) In Wirklichkeit dürfte der Wert des Quotienten wohl nicht \emptyset betragen, sondern einen wenn auch kleinen Bruch darstellen. Um diesen Wert zu ermitteln, hätten wir eine eigene feinere Titriermethode in Anwendung bringen müssen, doch haben wir dies als für unsere Ergebnisse bedeutungslos unterlassen.

können. Ebenso gibt diese Uebersichtstabelle die eingangs besprochenen Unterschiede beider Gruppen in der stationären Phase anschaulich wieder. Auch hier sehen wir im ersten Falle eine beträchtliche Minus-, im zweiten eine größere Plusdifferenz zwischen dem End- und dem Anfangswerte der Quotienten in Erscheinung treten.

Dieses Wechselspiel der Aviditätswerte tritt uns aber bei einem Vergleiche des Abklingens der Revaccination gegenüber der stationären Phase noch viel prägnanter entgegen.

(Abklingen der Revaccination siehe Anhang: I. Gruppe, Zahlentabellen und Kurven 16—19; II. Gruppe, Zahlentabellen und Kurven 20—23.)

Während wir bei der I. Gruppe nach Abklingen der Revaccination durchgehend hohe Quotienten finden (s. Uebersichtstabelle II und im Anhang Tabellen und Kurven 16—19), ist zur selben Zeit der Quotient der II. Gruppe auf Null (Tabellen und Kurven 20—23, Uebersichtstabelle II) gesunken, ein Verhalten, welches insbesondere bei der graphischen Darstellung schön zum Ausdruck gebracht wird.

III.

Für das Verständnis der Erscheinungen, wie sie uns bei den revaccinierten Tieren in der Phase der Revaccination selbst entgegentreten, müssen wir uns eng an unsere vorstehende Ueberlegung anlehnen.

Zunächst ist es gewiß für den Ausfall der Reaktionen nicht gleichgültig, ob wir zur Zeit der neuerlichen Antigenezufuhr hochavide (Gruppe II) oder nur wenig avide Antikörper (Gruppe I) im Kreislaufe vorfinden.

Die Wertigkeit des Quotienten in der „stationären Phase“, d. i. vor Beginn der neuerlichen Antigenezufuhr, hat somit auf den Verlauf der Revaccination einen bestimmenden Einfluß.

Wir sehen auch in der Tat, daß beide Gruppen in dieser Richtung erhebliche Unterschiede aufweisen.

Die I. Gruppe (Hase No. 1, 3, 8, 10, Zahlentabellen und Kurven 8, 9, 10 und 11 im Anhang), bei welcher wir in der „stationären Phase“ einem niedrigen Quotienten begegnen, läßt auch die bei der Erstimmunisierung zutage getretene Kongruenz des Verlaufes der Kurven mehr oder weniger

deutlich wiederkehren, wogegen bei der II. Gruppe, deren „stationäre Phase“ einen hohen Quotienten aufweist, die Kongruenz der Werte bei der Revaccination erheblich gestört erscheint (Zahlentabellen und Kurven 12, 13, 14, 15).

Ganz besonders aber fällt das verschiedene Verhalten der Aviditätswerte während der Revaccination bei beiden Gruppen auf. Während wir bei der I. Gruppe, die in der „stationären Phase“ einen niedrigen Quotienten aufweist, eine beträchtliche Steigerung des Aviditätswertes im Laufe der Revaccination eintreten sehen, nimmt bei der II. Gruppe der Quotient im Verlaufe der Revaccination gegenüber dem früheren Werte in der „stationären Phase“ nur minimal zu oder er sinkt direkt ab, wie dies die Uebersichtstabelle II deutlich zum Ausdruck bringt.

Nach unseren Ueberlegungen sind wir früher zu dem Schlusse gekommen, daß verschiedene Organe verschiedene qualifizierte Antikörper liefern. Diese Qualifizierung kann entweder gleich von Anfang der Produktion im Organe selbst begründet sein oder wir können uns auch vorstellen, daß alle Organe anfangs gleichwertige Antikörper hervorbringen, daß ein Unterschied erst bei den in der Folge produzierten Antikörpern durch größere oder geringere Anpassungsfähigkeit der einzelnen Organe bedingt wird. Ist in einem Organe, welches die Fähigkeit besitzt, durch Uebung und Anpassung hochavide Antikörper zu produzieren, einmal dieses Vermögen geweckt worden, dann wird es auch einen neuerlichen Reiz mit der Produktion aviderer Antikörper beantworten, als jene Organe, denen dieses Vermögen der Anpassung nur in beschränktem Maße zukommt und die daher nur wenig avide Antikörper zu produzieren vermögen.

Nach unserer Annahme sind in der stationären Phase das eine Mal (bei der I. Gruppe) Organe in Tätigkeit, welche weniger avide Antikörper produzieren, das andere Mal solche, welche hochavide (II. Gruppe) Produkte liefern. Die anderen Organe haben infolge der vorangegangenen Ermüdung ihre Produktion eingestellt bzw. infolge davon ihre Reizschwelle erhöht.

Wann diese Organe neuerdings zur Produktion angeregt werden, das hängt in erster Linie von der stattgehabten Er-

holung, in zweiter Linie von der Menge des Antigens ab, das auf sie einzuwirken vermag, also von der Größe des gesetzten Reizes. Bei jenen Tieren nun, bei welchen in der stationären Phase Organe tätig sind, welche die weniger aviden Antikörper liefern, dürfte das Antigen sowohl im Kreislaufe als auch an diesen Organen selbst nur langsam gebunden werden und es könnte ein beträchtlicherer Teil des noch ungebundenen Antigens an jene Organe gelangen, welche früher schon Antikörper produziert hatten und ihre Tätigkeit nur vorübergehend eingestellt haben. Diese Organe würden dadurch neuerlich zur Produktion angeregt.

Sind nun diese neuerdings zur Produktion herangezogenen Organe, wie dies in unserer Annahme für die I. Gruppe zutrifft, zugleich jene, welche schon von Haus aus oder infolge größerer Anpassungsfähigkeit avidere Antikörper zu produzieren vermochten, so wird das Resultat dann eine Steigerung des Aviditätswertes im Laufe der Revaccination und das mehr oder weniger deutliche Auftreten der Kongruenz beider Werte sein, weil mit der Tätigkeit neuer, avidere Antikörper liefernder Organe auch der Titerwert zugleich mit der Avidität zunimmt.

Anders verhält sich dies bei der II. Gruppe.

Hier kreisen im Blute hochavide Antikörper und es tritt infolge der Affinität eine rasche Bindung im Blute und an den funktionierenden Organen selbst ein, nur wenig ungebundenes Antigen wird zunächst einen Impuls auf die ermüdeten, ruhenden Organe auszuüben vermögen. Da diese aber im vorliegenden Falle nach unserer Annahme weniger avide Antikörper produzieren, so kann es wohl zu einer Erhöhung des Titers, nicht aber zu einer Erhöhung des Quotientenwertes kommen, im Gegenteil, derselbe wird abhängig vom jeweiligen Mischungsverhältnis der produzierten Antikörper sogar relativ abnehmen können.

Während also im ersten Falle eine Aviditätssteigerung dadurch möglich wäre, daß neuerdings jene Organe zur Produktion herangezogen werden, welche an und für sich oder infolge ihrer größeren Anpassungsfähigkeit höher avide Antikörper zu produzieren vermögen als diejenigen, welche die

Antikörper in der stationären Phase liefern, ist dies bei der II. Gruppe in derselben Art nicht möglich, weil diejenigen Organe, welche die avidesten Antikörper liefern können, bereits während der stationären Phase in Tätigkeit stehen. Eine Steigerung der Avidität könnte nach unserer Annahme hier zunächst nur durch weitere Anpassung an den Reiz der in der stationären Phase funktionierenden Organe hervorgebracht werden, weil sie an und für sich schon von allen Organen die avidesten Antikörper produzieren.

Diese Uebung und Anpassung wird gewiß am unermüdeten Organe eine recht beträchtliche sein können, hier dürfte sie wohl deswegen weniger in Betracht kommen, weil sie ja schon in der vorangegangenen Immunisierung ihren Höhepunkt erreicht haben dürfte.

Aber selbst, wenn sie eintritt, so wird doch nach Beteiligung der Produktionsgebiete wenig aviden Antikörper eine Mischung resultieren, die je nach dem quantitativen Verhältnisse beider Arten den Quotienten mehr oder weniger herabdrücken wird.

Das Resultat wäre ein Gleichbleiben oder Absinken des Aviditätswertes im Laufe der Revaccination für die II. Gruppe und ein mehr oder weniger deutliches Auftreten von Inkongruenz beider Werte, weil mit der Heranziehung neuer Organe zur Produktion wohl der Titer, nicht aber die Avidität erhöht werden wird.

IV.

Eine besondere Besprechung erfordert noch das Verhalten einiger Tiere während der Revaccination.

Aus der I. Gruppe von Tieren sind es Hase No. 10 (siehe Anhang, Zahlentabelle und Kurve No. 11), bei welchem wir ein plötzliches und vorübergehendes gleichsinniges Absinken von Titer und Avidität noch vor der Anstiegsperiode derselben finden, und Hase No. 3 (Zahlentabelle und Kurve 9), bei welchem der Quotient nach der vierten Injektion bei gleichbleibendem Titer abfällt.

Auch einige Ergebnisse im Verhalten der Tiere der II. Gruppe sollen hier getrennt behandelt werden (Zahlentabelle und Kurve 3, p. 305, 306).

Wir haben nach unserer früheren Ueberlegung angenommen, daß die infolge der Ermüdung einzelner Produktionsgebiete eingetretene Herabminderung oder Einstellung der Funktion die Produktion von Antikörpern nicht bloß ihrer Intensität, sondern auch ihrer Extensität nach beeinflussen wird. Wir müssen nun weiterhin folgerichtig annehmen, daß dies ein mehr oder minder verzögertes Antworten auf den Reiz zur Folge haben wird, was seinerseits wieder in den verschiedenen Phasen den Verlauf von Titer und Aviditätskurve beeinflussen wird.

Das Verhältnis von Titer und Aviditätswert im Laufe einer Immunisierungsperiode wird sich demnach aus dem jeweiligen quantitativen Verhältnis von Extensität und Intensität der Produktion einerseits, dem Verbräuche (natürliche Bindung) und der Zerstörungsgeschwindigkeit andererseits ergeben.

Darnach hätten wir dann folgende drei Möglichkeiten zu unterscheiden:

1) Es kann zu einem Stillstande, einer Verzögerung oder Herabsetzung der Antikörperproduktion kommen, der Verbrauch durch Bindung an das fortwährend zugeführte Antigen und die Zerstörungsgeschwindigkeit bleiben aber dieselben.

2) Einer gleichbleibenden oder sogar gesteigerten Antikörperproduktion kann ein unverhältnismäßig stärkerer Verbrauch durch Bindung oder eine größere Zerstörungsgeschwindigkeit gegenüberstehen.

3) Bei verzögerter oder sogar herabgesetzter Antikörperproduktion tritt überdies noch ein stärkerer Verbrauch durch Bindung hinzu oder auch die Zerstörungsgeschwindigkeit hat erheblich zugenommen.

Vorausgesetzt, daß diese hypothetischen Annahmen wirklich zu Recht bestünden, lassen sich folgende Ergebnisse davon ableiten:

ad 1) Der natürliche Abfall von Titer und Avidität einige Zeit nach Beendigung der Antigenezufuhr, wie er sich uns am Ende der Immunisierungsphasen, nach Aufhören der Antigenezufuhr, darstellt, ist auf die Abnahme der Antigenkörper-

produktion zurückzuführen. Dieselbe Verzögerung in der Produktion kann aber auch bei einem ermüdeten, das heißt überlasteten Organismus selbst bei neuer Antigenezufuhr eintreten.

ad 2) Tritt aus irgendwelchen, in geänderten Stoffwechsel- oder Resorptionsbedingungen gelegenen Ursachen ein ungleich rascherer Zerfall oder Bindung der Antikörper ein, dann kann es selbst bei gesteigerter Produktion zu einer Störung in der Kongruenz der Titer und Aviditätskurven kommen. Je nach dem quantitativen Verhältnis zwischen diesen Absorptions- und Neubildungsvorgängen wird dann der Verlauf der beiden Kurven bestimmt. Sie können parallel der Abscisse oder gegen diese geneigt verlaufen, sie können dabei mehr oder weniger konvergieren oder divergieren.

ad 3) Treten aus irgendeinem Grunde, mag dieser nun in einer momentanen oder dauernden Erschöpfung, einer Einstellung der Funktion der Produktionsgebiete im Stoffwechsel oder in Resorptionsverhältnissen liegen, die sub 3 angeführten Vorgänge ein, so werden alle bei Punkt 2 erörterten Möglichkeiten hier in noch verstärkterem Maße in Erscheinung kommen. Da alle diese Vorgänge der Absorption der Antikörper durch das eingeführte Antigen die avidesten Fraktionen der Antikörper zunächst betreffen, so werden sich auch hierin wieder bei unseren beiden Gruppen Unterschiede geltend machen, die von der Art und der Avidität der im Blute kreisenden Antikörper bzw. davon abhängen, welche Organe gerade zur Zeit der Reizwirkung Antikörper liefern.

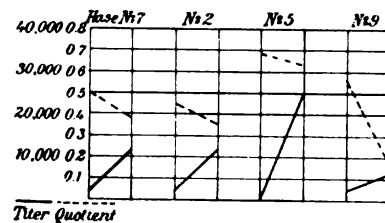
Demzufolge sehen wir auch bei allen Tieren der II. Gruppe in der Revaccination nach der ersten Injektion eine gemeinsame Erscheinung auftreten, die in einem Absinken der Avidität bei steigendem Titer zum Ausdruck kommt.

Zahlentabelle 3.

Hase No.	vor der Injektion		nach der Injektion	
	Titer	Avidität	Titer	Aidität
2	2,222	0,45	11,111	0,35
7	2,222	0,50	11,764	0,39
5	250	0,68	25,000	0,63
9	2,000	0,56	6,666	0,17

20*

Dieses Verhalten der 4 Versuchstiere der II. Gruppe gibt die Zahlentabelle und Kurve 3 wieder.



Kurve 3.

Bei allen 4 Versuchstieren kreisen hochavide Immunkörper im Blute, die bei Zufuhr von Antigen sofort absorbiert werden.

Je mehr aber von den vorhandenen Antikörpern bei gleichbleibender Intensität der Neubildung verbraucht

wird, desto stärker sinkt die Avidität, desto geringere Mengen ungebundenen Antigens bleiben aber zugleich zurück und vermögen auf die produzierenden Organe eine Reizwirkung auszuüben. Je stärker also die Avidität fällt, je mehr freie Antikörper von hoher Avidität gebunden werden, desto geringere Antigenmengen bleiben ceteris paribus für die Reizwirkung der antigenetischen Organe übrig, desto weniger wird der Titer ansteigen. Dabei spielt die Intensität des Neubildungsvorganges eine wichtige Rolle, da zunächst durch sie der Verbrauch gedeckt werden muß.

Wir hätten hier also einen unverhältnismäßig stärkeren Verbrauch bei gleichbleibender, resp. wenig gesteigerter Neuproduktion vor uns, und je nach dem quantitativen Verhältnisse zwischen diesen Absorptions- und Neubildungsvorgängen wird der Verlauf beider Kurven bestimmt werden, wie wir dies früher in den Bemerkungen zu Punkt 2 auseinandergesetzt haben.

V. Zusammenfassung.

Wir wollen noch einmal das Wesentlichste kurz zusammenfassen, um dann gleich die Schlußsätze daraus ableiten zu können.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß wir nach der Beantwortung des Reizes im Anfange der Immunisierung resp. nach den erhaltenen Anfangsquotienten in dieser Phase unsere Versuchstiere in zwei Gruppen teilen können, wobei die I. Gruppe Tiere mit hoher Anfangsavidität, die II. solche mit

niedriger Avidität umfaßt. Während nun im Laufe der Immunisierung bei beiden Tiergruppen Titer und Aviditätswerte gleichsinnig zunehmen, ergab sich aber nach Fortfall der Antigenzufuhr im Abklingen der Immunisierung insofern wieder ein erheblicher Unterschied, als diejenigen Tiere, welche vorher hohe Anfangsavidität hatten, jetzt bei abgesunkenem Titer niedrige Quotienten aufwiesen und umgekehrt, daß die Tiere mit niedriger Anfangsavidität jetzt hohe Quotienten zeigten.

Auch nach mehrmonatlicher Ruhepause tritt uns dasselbe Phänomen vor Beginn unserer Revaccinationsversuche entgegen.

Diejenigen Tiere, welche bei der Erstimmunisierung sehr früh hochavide Antikörper produzierten, zeigten nicht bloß im Ausklingen der Erstimmunisierung, sondern auch noch in der sogenannten „stationären Phase“, in der bereits eine Art Gleichgewicht, ein Ruhezustand eingetreten ist, niedrige Aviditätswerte. Dagegen finden wir bei denjenigen Tieren, welche zuerst nur wenig avide Antikörper produzierten und erst spät den Gipfelpunkt für Titer und Aviditätswert erreichten, in der stationären Phase hohe Quotienten vor.

Im Ausklingen der Revaccination ändern sich die Verhältnisse noch einmal, den niedrigen Aviditätswerten unmittelbar vor der Revaccination entsprechen jetzt im Abklingen hohe Werte, während bei jenen Tieren, welche in der stationären Phase hohe Aviditätswerte aufwiesen, der Quotient nunmehr fast auf 0 abgesunken ist. Der Verlauf der Revaccination selbst ist wieder für jede der beiden Gruppen charakteristisch. Während wir bei jener Gruppe, welche in der der Revaccination vorangehenden Phase niedrige Quotienten zeigte, nunmehr in der Revaccination eine beträchtliche Zunahme desselben bei gleichzeitigem Anstieg des Titers begegnen, finden wir bei der II. Gruppe mit vorangehendem hohen Quotienten in der Revaccination keine in Betracht kommende Zunahme desselben, vielmehr sinkt er bei einigen Tieren ab, und da der Titer steigt, begegnen wir hier einer Inkongruenz beider Werte.

Das periodische Wechseln und Wiederkehren der Aviditätswerte in den verschiedenen Phasen unserer Versuchsreihen in einer jeder Tiergruppe eigentümlichen Weise haben wir

nun folgendermaßen zu erklären versucht. Bei der Immunisierung werden durch den antigenetischen Reiz verschiedene Zellterritorien und Organe getroffen, die diesen Reiz in entsprechender Weise durch Bildung von Antikörpern beantworten.

Diese verschiedenen Produktionsgebiete werden aber nicht gleichzeitig, sondern zu verschiedenen Zeiten und in verschiedenen Immunisierungsphasen vom antigenetischen Reiz getroffen, und überdies scheinen individuelle Veranlagungen und verschiedene Reizempfindlichkeit sowohl des Organismus als auch einzelner Organe hierbei eine Rolle zu spielen.

Die den verschiedenen Produktionsgebieten entstammenden Antikörper sind unter sich nicht gleichwertig, sie sind je nach ihrem Entstehungsorte und der Anpassung des betreffenden Organes verschieden, der Unterschied selbst äußert sich im Aviditätswerte derselben. Die verschiedenen Organe liefern also entweder von Anfang verschieden qualifizierte Antikörper oder da eine Aviditätssteigerung innerhalb der einzelnen Produktionsgebiete durch Uebung möglich ist, verschieden avide Antikörper, je nach ihrer bisherigen Inanspruchnahme und Uebung.

Wirkt nun bei einem Immunisierungsprozesse ein Reiz durch längere Zeit, etwa durch periodische oder konstante Antigenzufuhr ein, so werden immer neue Organe oder Zellterritorien zur Produktion herangezogen, je nach der Abstufung ihrer Reizempfindlichkeit. Immer aber werden diejenigen Produktionsgebiete, welche schon auf den ersten Impuls geantwortet haben, dabei neuerlich mitgereizt, d. h. fortlaufend zur Produktion von Antikörpern gezwungen, wobei durch Uebung oder Anpassung eine gewisse Aviditätssteigerung eintreten kann. Hört die Reizwirkung auf oder ist Ermüdung eingetreten, so kommt es dann zu einer mehr oder weniger ausgebildeten Einstellung der Funktion, und zwar am stärksten in jenen Gebieten, welche zuerst und am längsten gereizt worden waren. Dies wird soweit gehen, bis schließlich nur mehr jene Produktionsstellen Antikörper hervorbringen, welche während der Reizwirkung am spätesten mobil gemacht und nur kürzere Zeit angestrengt wurden.

Aus dieser Annahme schöpfen wir das Verständnis für das wechselnde Verhalten der Aviditätswerte in den einzelnen Immunisierungsperioden.

Schlußsätze.

1) In der der Erstimmunisierung folgenden stationären Phase kommen nur so geringe Schwankungen von Titer und Avidität zur Beobachtung, daß sie keinesfalls für die von uns ermittelten Tatsachen von wesentlicher Bedeutung sein können.

2) Die Versuchstiere lassen sich nach ihrem Verhalten in zwei Gruppen teilen, deren eine zu Anfang der Erstimmunisierung mit sehr niedrigen Aviditäten reagiert, die andere dagegen mit relativ hohen.

3) Nach dem Abklingen der Erstimmunisierung war das Verhalten der Aviditäten das umgekehrte, indem diejenigen Tiere, welche zuerst niedrige Aviditäten hatten, nunmehr hohe Aviditäten zeigen und umgekehrt. Dasselbe Verhältnis besteht in der folgenden, annähernd stationären Phase.

4) Infolge der Revaccination findet neuerdings ein Wechsel der Aviditätswerte statt, sowohl bei jenen Tieren, die unmittelbar vor derselben hohe Aviditäten hatten und bei denen sich nun niedrige ergeben, als auch umgekehrt.

5) Es findet also ein für jede der beiden Gruppen charakteristischer Wechsel der Aviditätswerte in den einzelnen Phasen statt.

6) Im Verlaufe der Revaccination selbst finden wir bei jener Gruppe von Versuchstieren, welche in der der Revaccination vorausgehenden stationären Phase niedrige Quotienten zeigten, ein erhebliches Anwachsen des Aviditätswertes bei gleichzeitiger Titersteigerung: Es besteht also auch hier Kongruenz beider Werte, wie wir sie

schon bei der Erstimmunisierung auftreten sahen.

7) Bei der zweiten Gruppe von Tieren mit hohem Quotienten in der stationären Phase erscheint diese Kongruenz erheblich gestört, weil sich der ohnehin hohe Aviditätswert im Verlaufe der Revaccination entweder gar nicht oder nur ganz wenig erhöht, ja sogar absinken kann, wogegen aber der Titer ansteigt.

Anhang.

In diesem Abschnitt geben wir nunmehr die Versuchsprotokolle als solche wieder und glauben, daß wir uns nach den vorstehenden Ausführungen recht kurz fassen können.

I. Gruppe (Hase No. 1, 3, 8 und 10, Zahlentabelle und Kurve 4, 5, 8, 9, 10, 11, 16, 17, 18, 19).

I. Versuch. Hase No. 1 (siehe Zahlentabelle und Kurve 8 und 16). Dieses Versuchstier ist identisch mit dem Kaninchen W_{II} der Busson-schen¹⁾ Arbeit. Es erreichte damals nur eine Titerhöhe von 33 333 bei einer Avidität von 0,78 und zeigte frühzeitig, trotz fortgesetzter Injektion, einen Abfall beider Werte, um schließlich nach einer dreimonatlichen Pause auf 1600 Titerhöhe und einen Quotienten von 0,2 abzusinken.

Im Laufe der Revaccination erreicht die Titerkurve eine Höhe von 114 285 Agglutinin-Einheiten, der Quotient beträgt dabei 0,85, die Kongruenz beider Werte bleibt während der Revaccination gewahrt. In der stationären Phase vor der Revaccination betrug der Titer und Aviditätswert 1600 und 0,20, 2 Monate nach der Revaccination 33 333 und 0,80.

II. Versuch. Hase No. 3 (siehe Zahlentabelle und Kurve 9 und 17). Dieses Kaninchen ist dasselbe, welches bei den ersten Immunisierungsversuchen mit M_{II} bezeichnet wurde und bei welchem der Zusammenhang des Titer- und Aviditätswertes im Laufe einer Immunisierungsperiode am schönsten zum Ausdruck kam. Es wurde damals nach der vierten Injektion der höchste Titerstand mit 25 000 erreicht, der Quotient betrug 0,94. Bei der Revaccination finden wir einen Titerhöchststand von 33 000 und einen Quotienten von 0,80. Im großen und ganzen bleibt auch hier die Kongruenz beider Werte gewahrt. In der stationären Phase betrugen die Werte für Titer und Avidität 615 und 0,13, 2 Monate nach Beendigung der Revaccination 5454 und 0,70.

III. Versuch. Hase No. 8 (siehe Zahlentabelle und Kurve 5, 10, 18). Dieses Versuchstier wurde, ebenso wie das folgende, seinerzeit von

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, Heft 3.

Busson zu den forcierten Immunisierungsversuchen verwendet. Auch wurde bei diesen beiden Tieren das Verhalten von Titer und Avidität im Abklingen der Erstimmunisierung (siehe Zahlentabelle und Kurve 4 und 5) untersucht.

Bei der Erstimmunisierung erreichte dieses Kaninchen eine Titerhöhe von 25 000 und eine Avidität von 0,77, was auch den neuerlich bei der Revaccination erhaltenen Werten entspricht. Auch hier bleibt die Kongruenz im allgemeinen gewahrt. In der stationären Phase vor der neuerlichen Antigenezufuhr waren beide Werte bis auf 600 und 0,12 abgesunken und betrugen 2 Monate nach der Revaccination 13 333 und 0,60.

IV. Versuch. Hase No. 10 (siehe Zahlentabelle und Kurve 4, 11, 19). Dieser Hase, welcher ebenfalls seinerzeit zu forcierter Immunisierung (M_{IV}) verwendet worden war, hatte damals eine Titerhöhe von 50 000 und einen Quotienten von 0,88 erreicht, welche Werte vor Beginn der neuerlichen Versuche bis auf 236 und 0,12 abgesunken waren und 2 Monate nach der letzten Antigenezufuhr 3329 und 0,90 betrugen.

Auch hier sehen wir wieder den Parallelismus beider Kurven in Erscheinung treten, die Werte selbst aber erreichen nur auffallend niedrige Höhen.

II. Gruppe (Hase No. 2, 5, 7 und 9, Zahlentabelle und Kurve 6, 7, 12, 13, 14, 15, 20, 21, 22, 23).

Bei allen Versuchstieren dieser Gruppe tritt eine Inkongruenz beider Werte im Laufe der Revaccination in Erscheinung, bei allen Tieren sinkt der Quotient, welcher vor der neuerlichen Antigenezufuhr hoch war, 2 Monate nach dem letzten antigenetischen Reiz bereits auf nahezu 0 ab.

V. Versuch. Hase No. 9 (siehe Zahlentabelle und Kurve 7, 12, 20). Dieses Versuchstier hat, ebenso wie das folgende, nur drei Injektionen bekommen, da beide einmal, wie eingangs mitgeteilt wurde, zur Bestimmung der Schwankungsgrößen verwendet wurden, andererseits zwischen zwei Injektionen öfters Blut genommen wurde.

Bei der Erstimmunisierung (M_I) erreichte dieses Versuchstier eine Titerhöhe von 66 666 und einen Quotienten von 0,86, welche Werte in der stationären Phase 2000 und 0,56 betrugen. Auch hier wurde die Phase des Abklingens der Erstimmunisierung (siehe Zahlentabelle und Kurve 7) beobachtet.

VI. Versuch. Hase No. 5 (siehe Zahlentabelle und Kurve 13 und 21) wurde, ebenso wie das folgende Versuchstier, seinerzeit von Müller immunisiert und uns zu unseren Versuchen überlassen.

VII. Versuch. Hase No. 2 (siehe Zahlentabelle und Kurve 14 und 23).

VIII. Versuch. Hase No. 7 (siehe Zahlentabelle und Kurve 6, 15 und 22). Dieses Versuchstier erreichte bei der ersten Immunisierung (W_I) nach der siebenten Injektion eine Titerhöhe von 66 666 bei einem Aviditäts-

werte von 0,85 und ist nach einer sechsmonatlichen Pause auf 2250 und 0,40 abgesunken. Auch hier wurde im Abklingen der Erstimmunisierung untersucht (siehe Zahlentabelle und Kurve 6).

Bei der Revaccination wird schon nach der vierten Injektion eine Titerhöhe von 80 000 erreicht und insofern auch der Eingriff in ähnlicher Weise beantwortet wie bei der Erstimmunisierung, nur daß jetzt der Titer etwas höhere Werte erreicht und rascher ansteigt als dort. Ein beträchtlicher Unterschied in beiden Versuchen ergibt sich aber im Verlaufe der Aviditätskurve, die bei der Erstimmunisierung mit dem Titer ansteigt und abfällt, was auch graphisch gut zum Ausdruck kommt. Beim revaccinierten Tiere zeigt die Aviditätskurve einen flachen Verlauf mit geringen Schwankungen.

I. Abklingen der Erstimmunisierung.

I. Gruppe: Zahlentabellen und Kurven 4 und 5.

II. Gruppe: Zahlentabellen und Kurven 6 und 7.

Zahlentabelle 4 (Versuch VI M_{IV} l. c.). Hase No. 10.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinat.-Einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinat.-Einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
26. V.	9. VI.	14	16 666	500	0,72
	14. VI.	19	6 666	500	0,45
	22. VI.	27	3 703	370	0,40
	10. VII.	45	2 222	555	0,50
	28. VII.	63	1 250	625	0,29
	10. VIII.	75	1 250	505	0,45

Kurve 4 (Versuch VI M_{IV} l. c.). Hase No. 10.

Zahlentabelle 5 (Versuch V M_{III} l. c.). Hase No. 8.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinat.-Einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinat.-Einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
26. V.	5. VI.	10	20 000	500	0,83
	9. VI.	14	10 000	500	0,26
	14. VI.	19	6 666	500	0,12
	22. VI.	27	3 703	370	0,40
	10. VII.	45	1 666	555	0,34
	28. VII.	63	833	555	0,34
	10. VIII.	75	1 000	500	0,45

Kurve 5 (Versuch V M_{III} l. c.). Hase No. 8.

Zahlentabelle 6 (Versuch III W_I l. c.). Hase No. 7.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinat.-Einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinat.-Einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
11. VI.	19. VI.	8	50 000	500	0,56
	5. VII.	24	25 000	500	0,56
	23. VII.	42	10 000	333	0,58
	6. VIII.	56	14 000	510	0,92

Kurve 6 (Versuch III W_I l. c.). Hase No. 7¹).

Zahlentabelle 7 (Versuch IV M_I l. c.). Hase No. 9.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinat.-Einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinat.-Einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
8. VI.	20. VI.	12	25 000	600	0,28
	5. VII.	27	16 000	500	0,45
	23. VII.	45	11 111	740	0,76
	6. VIII.	59	8 333	520	0,73

Kurve 7 (Versuch IV M_I l. c.). Hase No. 9.

II. Revaccination.

I. Gruppe: Zahlentabellen und Kurven 8—11.

II. Gruppe: Zahlentabellen und Kurven 12—15.

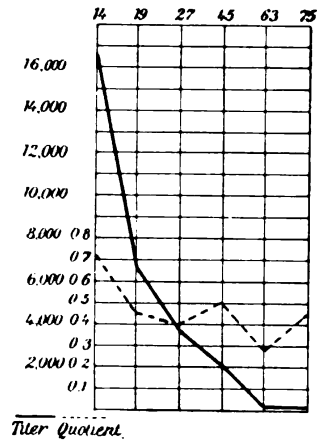
Zahlentabelle 8. Hase No. 1.

Tag der Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blutentnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
	25. X.		3 636	519	0,59
	2. XI.		1 770	590	0,25
	8. XI.		1 600	500	0,20
8. XI.	17. XI.	9	9 142	761	0,42
19. XI.	29. XI.	10	60 000	500	0,60
2. XII.	13. XII.	11	114 285	501	0,75
17. XII.	27. XII.	10	111 111	500	0,85
5. I.	17. I.	12	64 000	500	0,53
22. I. *)	3. II.	11	66 666	501	0,40

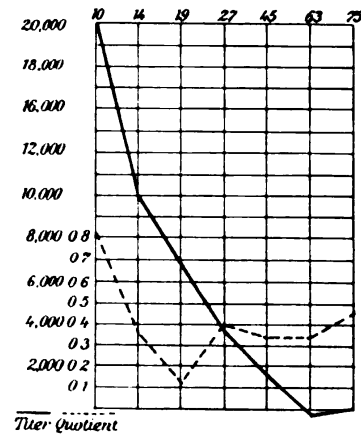
Kurve 8. Hase No. 1.

1) Die Anzahl der Tage seit der letzten Injektion ist oberhalb jeder Phase mit arabischen Ziffern vermerkt.

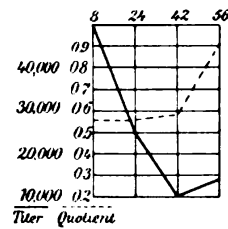
2) Die letzte Injektion wurde bei allen Tieren mit 10 ccm und nicht wie bisher mit 3 ccm vorgenommen.



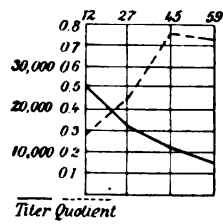
Kurve 4.



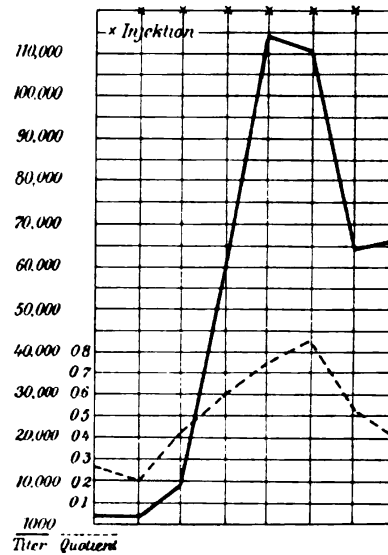
Kurve 5.



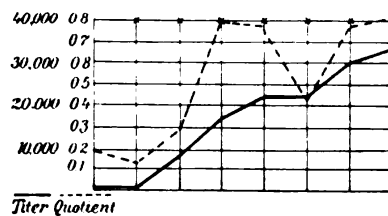
Kurve 6.



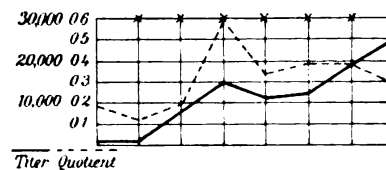
Kurve 7.



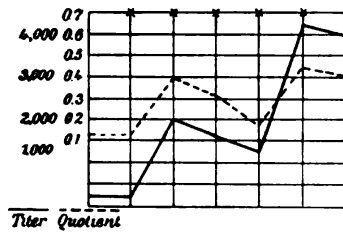
Kurve 8.



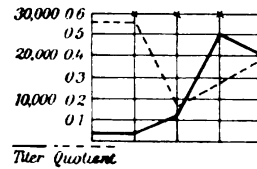
Kurve 9.



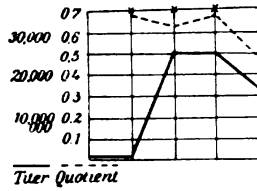
Kurve 10.



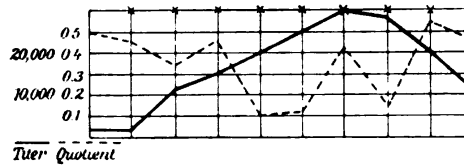
Kurve 11.



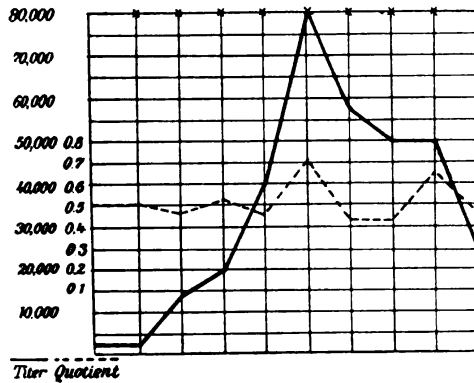
Kurve 12.



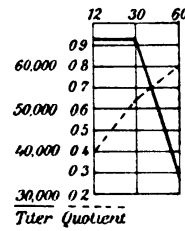
Kurve 13.



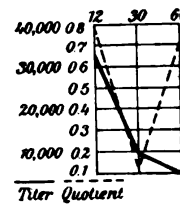
Kurve 14.



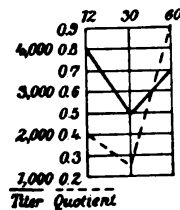
Kurve 15.



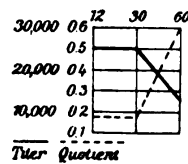
Kurve 16.



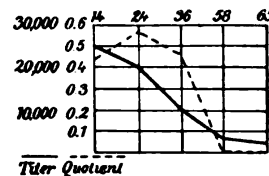
Kurve 17.



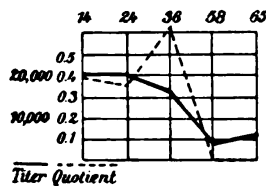
Kurve 18.



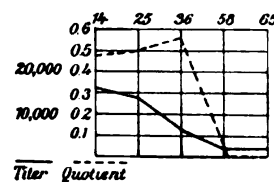
Kurve 19.



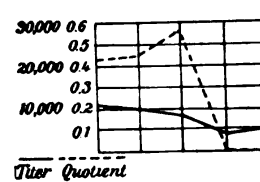
Kurve 20.



Kurve 21.



Kurve 22.



Kurve 23.

Zahlentabelle 9. Hase No. 3.

Tag der Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blutentnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
	26. X.		1 000	500	0,53
	3. XI.		625	625	0,19
	9. XI.		615	615	0,13
10. XI.	18. XI.	8	8 000	888	0,28
19. XI.	29. XI.	10	17 777	507	0,8
2. XII.	13. XII.	11	22 857	508	0,78
17. XII.	27. XII.	10	22 857	508	0,42
5. I.	17. I.	12	30 000	500	0,78
22. I.	3. II.	12	33 000	555	0,80

Kurve 9. Hase No. 3.

Zahlentabelle 10. Hase No. 8.

Tag der Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blutentnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinat.-Einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
	27. X.		1 000	500	0,53
	4. XI.		666	666	0,18
	10. XI.		533	533	0,12
11. XI.	19. XI.	9	8 751	476	0,18
20. XI.	30. XI.	10	15 000	394 ¹⁾	0,60 ¹⁾
4. XII.	15. XII.	11	11 428	519	0,32
18. XII.	29. XII.	11	12 307	512	0,38
5. I.	19. I.	14	18 461	512	0,38
22. II.	3. II.	12	25 000	500	0,17

Kurve 10. Hase No. 8.

Zahlentabelle 11. Hase No. 10.

Tag der Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blutentnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
	28. X.		363	363	0,38
	5. XI.		250	250	0,12
	11. XI.		222	222	0,12
20. XI.	2. XII.	12	2000	1000	0,40
4. XII.	15. XII.	11	1666	555	0,36
19. XII.	29. XII.	11	1333	566	0,18
5. I.	17. I.	12	4285	535	0,45
22. I.	3. II.	14	4000	500	0,40

Kurve 11. Hase No. 10.

1) Es sind hier verhältnismäßig wenig Agglutinationseinheiten zur

Zahlentabelle 12. Hase No. 9.

(Siehe auch Tabelle und Kurve 2.)

Tag der Injektion	Tag der Blut-entnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blut-entnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
12. I. 22. I.	11. I.		2 000	500	0,56
	20. I.	8	6 666	666	0,17
	31. I.	9	14 285	571	0,22 ¹⁾
	9. II.	18	25 000	625	0,12
	12. II.	21	25 000	625	0,29
19. II.	14. II.	23	14 000	432	0,36
	1. III.	14	20 000	454	0,39

Kurve 12. Hase No. 9.

Zahlentabelle 13. Hase No. 5.

(Siehe auch Kurve 1 und Tabelle 1.)

Tag der Injektion	Tag der Blut-entnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blut-entnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
12. I. 22. I.	28. XII.		250	250	0,63
	11. I.		250	250	0,68
	20. I.	8	25 000	500	0,63
	31. I.	9	18 000	649	0,15
	7. II.	15	25 000	500	0,45
14. I.	9. II.	17	25 000	757	0,67
	12. II.	20	25 000	751	0,58
	14. II.	22	16 666	505	0,60
	1. III.	14	16 666	416	0,47

Kurve 13. Hase No. 5.

Absorption dargeboten worden, wodurch sich der Quotient etwas höher stellen dürfte, als es der Wirklichkeit entspricht.

1) Auch hier wurden ebenso wie bei den beiden folgenden Versuchstieren zwischen letzter und vorletzter Injektion mehrere Blutproben in einem längeren Zeitintervall entnommen, von denen nur der Höchstwert in die Kurve eingetragen wurde.

Zahlentabelle 14. Hase No. 2.

Tag der Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blutentnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
	26. X.		2 000	500	0,50
	3. XI.		2 000	500	0,45
	13. XI.		2 500	625	0,49
	16. XI.		2 222	555	0,45
18. XI.	29. XI.	11	11 111	427	0,35
1. XII.	7. XII.	6	15 384	512	0,46
9. XII.	16. XII.	7	18 181	454	0,03
	18. XII.	9	20 000	500	0,10
19. XII.	28. XII.	9	25 000	500	0,12
30. XII.	11. I.	12	30 769	466	0,41
12. I.	20. I.	8	28 571	649	0,15
22. I.	31. I.	9	20 000	555	0,34 ¹⁾
	5. II.	14	20 000	555	0,27
	9. II.	18	20 000	606	0,54
	12. II.	21	16 000	555	0,20
	14. II.	23	20 000	400	0,31
14. II.	1. III.	14	11 111	555	0,43

Kurve 14. Hase No. 2.

Zahlentabelle 15. Hase No. 7.

Tag der Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen der letzten Injekt. und der Blutentnahme	Wertigkeit des Vollserums resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
	26. X.		2 500	625	0,29
	3. XI.		2 500	625	0,41
	13. XI.		2 000	500	0,50
	16. XI.		2 222	555	0,50
18. XI.	26. XI.	8	11 764	452	0,39
	29. XI.	11	13 333	512	0,46
1. XII.	7. XII.	6	20 000	555	0,50
9. XII.	16. XII.	7	40 000	400	0,45
19. XII.	28. XII.	9	80 000	400	0,69
30. XII.	11. I.	11	57 142	476	0,42
12. I.	20. I.	8	50 000	625	0,41
22. I.	31. I.	9	44 444	505	0,51
	5. II.	14	50 000	568	0,51 ¹⁾
	9. II.	18	50 000	500	0,63 ¹⁾
	12. II.	21	40 000	500	0,45 ¹⁾
	14. II.	23	33 000	416	0,51 ¹⁾
14. II.	1. III.	15	25 000	438	0,44 ¹⁾

Kurve 15. Hase No. 7.

1) Bei 4 Versuchstieren wurden zwischen der vorletzten und letzten Injektion längere Zeit hindurch Blutproben genommen, um in die Resor-

III. Abklingen der Revaccination.

I. Gruppe: Zahlentabellen und Kurven 16—19.

II. Gruppe: Zahlentabellen und Kurven 20—23.

Zahlentabelle 16. Hase No. 1.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
22. I.	3. II.	12	66 666	501	0,40
	21. II.	30	66 666	501	0,64
	22. III.	60	33 333	505	0,80

Kurve 16. Hase No. 1.

Zahlentabelle 17. Hase No. 3.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
22. I.	3. II.	12	33 000	555	0,80
	21. II.	30	9 090	505	0,13
	22. III.	60	5 454	495	0,70

Kurve 17. Hase No. 3.

Zahlentabelle 18. Hase No. 8.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
22. I.	3. II.	12	25 000	500	0,17
	22. II.	30	25 000	500	0,17
	22. III.	60	13 000	513	0,60

Kurve 18. Hase No. 8.

ptionsvorgänge etc. Einblick zu nehmen. In den Kurven wurde nur der höchste Wert berücksichtigt.

Zahlentabelle 19. Hase No. 10.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
22. I.	3. II.	12	4 000	500	0,40
	21. III.	30	2 500	500	0,26
	22. III.	60	3 529	504	0,90

Kurve 19. Hase No. 8.

Zahlentabelle 20. Hase No. 9.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten, resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
14. II.	1. III.	14	20 000	454	0,39
	10. III.	24	20 000	689	0,36
	22. III.	36	16 666	505	0,62
	14. IV.	58	4 000	500	0
	21. IV.	65	5 000	500	0

Kurve 20. Hase No. 9.

Zahlentabelle 21. Hase No. 5.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten, resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
14. II.	1. III.	14	16 666	416	0,47
	11. III.	25	14 285	571	0,51
	22. III.	36	7 142	510	0,56
	14. IV.	58	2 000	500	0
	21. IV.	65	2 500	500	0

Kurve 21. Hase No. 5.

Zahlentabelle 22. Hase No. 7.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten, resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
14. II.	1. III.	14	25 000	438	0,44
	10. III.	24	20 000	500	0,56
	22. III.	36	11 111	404	0,45
	14. IV.	58	3 333	555	0
	21. IV.	65	2 500	500	0

Kurve 22. Hase No. 7.

Zahlentabelle 23. Hase No. 2.

Tag der letzten Injektion	Tag der Blutentnahme	Zeitintervall zwischen beiden	Agglutinin-einheiten, resp. Agglutinationstiter	Agglutinin-einheiten, dargeboten zur Absorption	Quotient
14. II.	1. III.	14	11 111	555	0,43
	13. III.	27	10 000	500	0,45
	22. III.	36	8 333	520	0,57
	14. IV.	58	4 000	500	0
	21. IV.	65	5 000	500	0

Kurve 23. Hase No. 2.

III. Ueber Aviditätsunterschiede bei subkutaner und intraperitonealer Immunisierung mit Typhusbacillen.

Von Dr. August Rintelen,

Assistent an der medizinischen Klinik zu Graz.

Im zweiten Kapitel ihrer Arbeit „Ueber die Beeinflussung der Antigenwirkung durch Lecithin und Organlipoide und deren Beteiligung am Immunisierungsprozeß“¹⁾ berichten E. P. Pick und D. Schwarz über Versuche, bei denen sie durch subkutane Injektionen kleiner Mengen von Typhusbakterien in 1-proz. Lecithinemulsion bei Kaninchen bedeutend höhere Agglutinationswerte erhielten als bei solchen Tieren, die mit ebenfalls geringen Mengen einer nativen Bacillenaufschwemmung immunisiert wurden, während sich bei intraperitonealer Injektion in den Titern gegenüber den Kontrolltieren keine Differenz ergab. Aus diesem Unterschiede zwischen den Werten nach subkutaner und intraperitonealer Injektion und aus anderen Tatsachen vermuteten sie, daß das Lecithin mit den Leibessubstanzen der Bakterien eine Verbindung eingehe, die vom Peritoneum gelöst oder irgendwie verändert werde, während bei subkutaner Applikation durch die erhöhte Lipidlöslichkeit des Antigens eine viel größere

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 15, 1909, Heft 4 u. 6.

Resorption und Ausnutzung durch die antikörperbildenden Organe erreicht werde. Bassenge¹⁾ hingegen, der ebenfalls Kaninchen mit Typhusbakterien-Lecithinemulsionen immunisiert und dadurch Serum mit hohem Antitoxingehalt erhalten hatte, erklärte seine Resultate damit, daß durch die bakteriolytische Eigenschaft des Lecithins die Leibessubstanzen der Bakterien viel ausgiebiger extrahiert würden.

Nach den Versuchsergebnissen von Pick und Schwarz war es gewiß nicht von geringem Interesse, die Aviditäten der Sera der so behandelten Tiere zu prüfen und die Ergebnisse mit den Aviditäten der Sera solcher Tiere zu vergleichen, die mit einer gewöhnlichen abgetöteten Typhusbakterienaufschwemmung immunisiert waren, da nach den Versuchen P. Th. Müllers insofern ein Zusammenhang zwischen der Wertigkeit eines Serums und der Avidität besteht, als mit dem Höherwerden des Titers meist auch eine Zunahme der Avidität stattfindet. Daher war nach den Versuchsergebnissen von Pick und Schwarz zu erwarten, daß die mit einer Typhusbakterien-Lecithinemulsion immunisierten Tiere ein Serum mit viel avideren Agglutininen produzieren würden als die mit einer abgetöteten Bakterienaufschwemmung behandelten.

Ich immunisierte daher zunächst zwei Kaninchen durch subkutane Injektion von je 1 ccm von Typhusbakterien in 1-proz. Lecithinemulsion, die ich nach den Angaben von Pick und Schwarz mir zubereitet hatte. Als Kontrolltiere verwendete ich zwei Kaninchen, die die gleiche Menge derselben Typhusbakterienaufschwemmung (aus der die Typhusbakterien-Lecithinemulsion hergestellt war) durch Zusatz von $\frac{1}{10}$ Volum einer 5-proz. Karbolsäurelösung abgetötet, subkutan eingespritzt erhielten. Am 9. Tage nach der ersten Injektion wurde das Serum das erste Mal auf Wertigkeit und Avidität geprüft und sind die Resultate dieser Untersuchung wie auch die der folgenden nach weiteren Injektionen erhaltenen, wobei jedesmal die gleiche Menge (1 ccm) injiziert wurde, in der Tabelle I ersichtlich gemacht.

1) Deutsche mediz. Wochenschr., 1908, No. 4 u. 29.

Tabelle I.

Lecithinhasen				Kontrollhasen			
Datum der Blut-entnahme	Titer	Zur Absorpt. dargebot. Menge	Quotient	Datum der Blut-entnahme	Titer	Zur Absorpt. dargebot. Menge	Quotient
I.				III.			
29. XI. 09	1000	500	0,56	29. XI.	1714	571	0,6
13. XII.	2000	500	0,8	13. XII.	4000	500	0,7
30. XII.	1428	476	0,7	30. XII.	4444	555	0,82
II.				IV.			
30. XI. 09	533	533	0,33	30. XI.	188	188	0,6
15. XII.	1000	500	0,75	15. XII.	444	444	0,6
29. XII.	833	416	0,46	29. XII.	277	277	0,8

Sehen wir vorderhand von den Absorptionsquotienten ab und berücksichtigen wir nur die Titerzahlen, so fällt uns im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen von Pick und Schwarz sofort auf, daß zwischen den mit Typhusbakterien-Lecithinemulsion behandelten Kaninchen und den Kontrolltieren in der Höhe der Titer keine nennenswerte Differenz besteht. Sowohl die ersteren wie die letzteren zeigen teilweise schon nach der ersten Injektion einen verhältnismäßig hohen Titer, der im Verlaufe der weiteren Immunisierung auch noch weiter ansteigt; teilweise zeigen die Tiere aber andererseits sogar noch bis nach der dritten Injektion einen verhältnismäßig recht niederen Titer, Differenzen, die gewiß nur als individuelle aufzufassen sind.

Da also eine stärkere Agglutininproduktion bei den Lecithintieren hier nicht zu erkennen war, so erwog ich die Möglichkeit, ob nicht vielleicht das für die Emulsion benutzte Lecithin, das schon alt war, die Ursache des negativen Ausfalles der Versuche sein konnte und stellte mir daher aus einem von der Firma Merk frisch bezogenen Lecithin neuerlich eine Bakterien-Lecithinemulsion her. Aber auch mit dieser waren, wie aus folgender Tabelle ersichtlich, keine Differenzen in der Titerhöhe der Sera zu erzielen.

Tabelle II.

Lecithinhasen				Kontrollhasen			
Datum der Blut-entnahme	Titer	Zur Absorpt. dargebot. Menge	Quotient	Datum der Blut-entnahme	Titer	Zur Absorpt. dargebot. Menge	Quotient
V.				VII.			
3. I.	320	320	0,37	3. I.	266	266	0,4
21. I.	1555	518	0,39	21. I.	1 273	636	0,37
				31. I.	4 000	500	0,65
VI.				VIII.			
3. I.	923	923	0,4	3. I.	1 099	1099	0,46
19. I.	2500	500	0,45	19. I.	4 615	523	0,66
31. I.	4285	535	0,25	31. I.	10 000	500	0,7

Da nun in den Versuchsprotokollen von Pick und Schwarz die mit nativen Bacillen (ohne Lecithin) behandelten Kontrollhasen nicht angeführt sind, vielmehr nur Versuche mit auf 63° erhitzten Bacillen in deren Tabelle aufgenommen sind, welche natürlich nicht mit den mit nativen, nicht erhitzten Lecithinbakterien angestellten Versuchen verglichen werden können, so daß also ein Urteil darüber, wie groß die Differenzen zwischen Lecithintieren und Kontrolltieren waren, aus der Lektüre der Abhandlung nicht zu gewinnen war, wendete ich mich brieflich an Herrn Doz. Dr. E. P. Pick mit der Anfrage, welche Werte seine mit nativen Bacillenaufschwemmungen injizierten Kontrolltiere zeigten. Herr Doz. Dr. Pick teilte mir darauf mit, daß seine so behandelten Tiere Sera mit einem Titer von höchstens 90, nie aber einen so hohen wie die mit Typhus-Lecithinemulsion behandelten geliefert hätten.

Nachdem ich nun aber bei meinen analogen Versuchen bezüglich der Titerzahlen keine Differenzen zwischen den mit Typhuslecithin vorbehandelten Tieren und den Kontrolltieren erhalten hatte, eine Differenz also in der Antikörperproduktion nicht zu bestehen schien, konnte ich natürlich auch nicht einen nennenswerten Unterschied in den Aviditäten der so verschieden immunisierten Tiere erwarten. Sehen wir uns nun die Absorptionsquotienten auf Tabelle I und II genauer an, so werden wir sofort zur Einsicht kommen, daß wir tatsächlich bei den beiden Gruppen von Versuchstieren keine besonderen Unterschiede in der Höhe der Absorptionsquotienten

nachweisen können. Dagegen zeigt sich auch hier wieder — ganz unabhängig davon, ob es sich um Lecithintiere oder um Kontrolltiere handelt — eine Beziehung zwischen Titerhöhe und Avidität, in dem Sinne, daß den höheren Titern meist die höheren Aviditäten entsprechen und mit dem Höherwerden der Titer eine Zunahme in der Avidität deutlich erkennbar ist.

Betrachten wir nun weiterhin — wieder ganz abgesehen davon, ob es sich um Sera von Tieren handelt, die mit einer Typhus-Lecithinemulsion vorbehandelt wurden, oder um die Sera von Kontrolltieren — die einem bestimmten Serum-titer entsprechenden Absorptionsquotienten, so fällt uns auf, daß dieselben ungewöhnlich hoch sind. Der deutlichen Uebersicht wegen habe ich in Tabelle III die Absorptionsquotienten und deren Durchschnitte angeführt, wie ich sie bei meinen subkutan immunisierten Tieren erhalten habe, wobei in der ersten Kolonne diejenigen angegeben sind, die bei einem Serumtiter von 100—1000, in der zweiten die, welche bei einem Titer von 1000—10000 erhalten wurden.

Tabelle III.

Titer 100—1000	Titer 1000—10000
0,33	0,56
0,46	0,8
0,6	0,7
0,6	0,75
0,8	0,6
0,37	0,7
0,4	0,82
0,4	0,53
	0,19
	0,53
	0,39
	0,45
	0,37
	0,46
	0,66
	0,7
	0,65
	0,25
Durchschnitt 0,49	0,55

Vergleichen wir nun die Durchschnitte der Absorptionsquotienten der intraperitoneal immunisierten Tiere nach den Arbeiten von P. Th. Müller und Busson¹⁾ mit den

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, Heft 3.

Durchschnittszahlen meiner subkutan behandelten Tiere, wie sie in Tabelle IV zusammengestellt sind, und zwar wieder nach den entsprechenden Titerhöhen geordnet, so ist die Differenz sehr deutlich zu erkennen.

Tabelle IV.

Versuche	Experimentator	Art der Injektion	100—1000	1000—10 000
neue	Rintelen	subkutan	0,49	0,55
alte	P. Th. Müller	intraperitoneal	0,20	0,41
alte	Br. Busson	intraperitoneal	0,29	0,42

Die Unterschiede zwischen den Absorptionsquotienten sind also bei den auf verschiedene Weise immunisierten Tieren wirklich ganz auffallend große. Während ich bei meinen Versuchstieren bei einem Titer bis zu 1000 einen Quotienten von durchschnittlich 0,49 erhalten habe, haben P. Th. Müller und Busson erst bei einer Titerhöhe von über 10 000 einen annähernd gleich hohen Quotienten nachweisen können.

Wenn wir uns nun die Frage stellen: Was ist wohl die Ursache dieser großen Differenz in den Aviditäten bei subkutan und bei intraperitoneal immunisierten Kaninchen? so wäre zunächst folgende Möglichkeit zu berücksichtigen: Wie aus meinen weiteren Ausführungen ersichtlich ist, habe ich angenommen, daß bei der subkutanen Einverleibung der Antigene infolge der nicht so günstigen Resorption vielleicht nur die der Injektionsstelle zunächstliegenden Lymphdrüsen zur Antikörperproduktion herangezogen werden. Da wäre es nun ganz gut möglich, daß diese Drüsen im Gegensatz zu den bei intraperitonealer Injektion zur Antikörperproduktion in Anspruch genommenen Organen viel besser zur Bildung hochavider Produkte geeignet sind und infolgedessen von Anfang an Agglutinine höherer Avidität produzieren. Ich glaube jedoch, daß wir zu einer noch befriedigenderen Beantwortung unserer Frage dadurch gelangen werden, daß wir die vermutlichen Vorgänge bei der Antikörperbildung bei diesen beiden verschiedenen Arten der Immunisierung gegenüberstellen.

Bei der intraperitonealen Injektion ist durch die große Resorptionsfähigkeit des Peritoneums eine nicht nur sehr rasche, sondern auch sehr vollständige Resorption der eingeführten Antigene wohl zu erwarten. Diese werden daher sehr

rasch zu den verschiedenen im Körper befindlichen Organen, in denen die Antikörperproduktion vor sich geht (Lymphdrüsen, Knochenmark usw.) gebracht werden. Infolge dieser günstigen Resorptionsverhältnisse wird aber, da neues Antigen nicht nachgeschafft wird, der Reiz zur Antikörperproduktion relativ bald nachlassen. Die Avidität der Antikörper ist infolgedessen nach der ersten Injektion nur eine geringe. Erst durch wiederholte Immunisierung erhalten wir dann mit der lebhafteren Antikörperproduktion und dem Ansteigen des Serumtiters Antikörper höherer Avidität.

Anders gestalten sich jedoch die Verhältnisse bei subkutaner Injektion. Hier sind die Bedingungen für eine rasche und vollständige Resorption bei weitem nicht so günstig, die eingeführten Antigene werden nur allmählich von der Injektionsstelle fortgeschafft, so daß also ein fortwährender und damit auch ein länger andauernder Reiz auf die Antikörper bildenden Organe ausgeübt wird. Und nicht nur darin, daß ein fortwährender Reiz gegeben ist, dürfte ein großer Unterschied zwischen den beiden Arten der Antikörperproduktion gelegen sein, sondern auch in dem Umstande, daß bei der subkutanen Injektion infolge der oben angenommenen verminderten und verlangsamten Resorption vermutlich nur die der Injektionsstelle zunächst liegenden Gewebe bzw. die regionären Lymphdrüsen zur Antikörperproduktion angeregt werden und nicht, wie bei der raschen Resorption nach intraperitonealer Injektion, sämtliche Antikörper produzierenden Organe. Bei der subkutanen Immunisierung werden somit relativ wenig ausgebreitete Organbezirke, diese aber dafür dauernd und intensiver gereizt, als bei der peritonealen, wo sich die gleiche Antigenmenge sofort über den ganzen Organismus verteilt. Im ersteren Falle werden daher zwar wenig, dafür aber hochavide Produkte geliefert werden, im letzteren dagegen, wo viele Organe an der Produktion beteiligt sind, wird der Titer zwar hoch sein, die Avidität aber, entsprechend der geringen Tätigkeit jedes einzelnen Organes, wird hier nur eine geringe Höhe erreichen.

Um nun zu sehen, ob durch Erzeugung eines länger andauernden Reizes auch bei intraperitonealer Injektion ein Serum mit hoher Avidität zu erhalten sei, immunisierte ich

3 Kaninchen derart, daß ich, wie aus Tabelle V ersichtlich, durch 3 Tage täglich in ansteigenden Dosen die gleiche Gesamtmenge, die ich bei meinen subkutanen Immunisierungen verwendet hatte (1 ccm), intraperitoneal injizierte, um so auf die Antikörper produzierenden Organe einen länger andauernden Reiz auszuüben. Dabei möchte ich bemerken, daß es schon Fornet und Müller gelungen war, durch solche fraktionierte Immunisierung Serum mit relativ hohem Titer zu erhalten.

Das Resultat des Versuches war nun folgendes:

Tabelle V.

Versuchstier	Tag der Injektion	Menge der Aufschw.	Kochsalzlösung	Tag der Blutentnahme	Titer	Zur Absorption dargeboten	Absorpt.-Quotient
IX	21. I. 10	0,1 ccm	0,9 ccm	31. I. 10	5500	500	0,45
X	22. I.	0,3 "	0,7 "				
XI	23. I.	0,6 "	0,4 "	31. I.	1818	606	0,12
	7. II.	0,1 "	0,9 "	18. II.	2000	500	0,45
	8. II.	0,3 "	0,7 "				
	9. II.	0,6 "	0,4 "				

Erwähnt sei, daß Tier No. X am 26. I. geworfen hatte.

Stelle ich nun diese Ergebnisse den Zahlen gegenüber, die Busson nach der ersten intraperitonealen Injektion erhielt, so ergibt sich, wie in Tabelle VI ersichtlich, folgendes Resultat:

Tabelle VI.

Intraperitoneal einmalige Injektion		Intraperitoneal fraktion. Injektion	
Titer	Quotient	Titer	Quotient
3500	0,45	2500	0,45
3333	0,33	1818	0,12
800	0,31	2000	0,45
500	0,27		
Durchschnitt 1787	0,34	2106	0,34

Wie aus obiger Tabelle sofort ersichtlich, ist es nicht gelungen, durch fraktionierte intraperitoneale Injektion höhere Absorptionsquotienten bei gleichem Titer zu erreichen, als Busson nach einmaliger intraperitonealer Injektion bekommen

hatte. Der negative Ausfall dieses Versuches braucht jedoch, da der Titer bei der fraktionierten Injektion kein wesentlich höherer war als bei der Injektion der Gesamtmenge, begreiflicherweise nicht gegen die Richtigkeit der früher angeführten Ueberlegung zu sprechen, daß bei den Subkutanversuchen der fortgesetzt andauernde Reiz zur Antikörperproduktion die Ursache der Bildung Sera höherer Avidität sei.

Auf einen Umstand möchte ich noch hinweisen, weil ich glaube, dabei auf eine gewisse Analogie zwischen den Resultaten nach Immunisierung durch subkutane Injektion und der im Verlaufe schwerer Erkrankung eintretenden Immunisierung aufmerksam machen zu können.

Es handelt sich um den Vergleich der Absorptionsquotienten, wie ich sie bei meinen „Aviditätsstudien am Serum Typhuskranker“ ¹⁾, und denen, die ich hier bei subkutaner Immunisierung erhalten habe. Damals habe ich auf eine Differenz in der Höhe der Absorptionsquotienten bei schweren und leichten Formen des Typhus hingewiesen, ohne dabei besonders die Titerhöhe zu berücksichtigen. Nun habe ich aber in folgender Tabelle diese Zahlen und deren Durchschnitt bei einer Titerhöhe von 100—1000 gegenübergestellt und dabei folgendes interessantes Resultat erhalten.

Tabelle VII.

Leichte Formen		Schwere Formen	
Titer	Quotient	Titer	Quotient
400	0,1	200	0,84
246	0,28	355	0,97
228	0,94	533	0,72
457	0,36	100	0,88
533	0,05	355	0,54
800	0,9	400	0,85
800	0,12		
640	0,09		
Durchschnitt 513	0,35	324	0,8

Es ist auf den ersten Blick zu sehen und wurde auch damals schon von mir darauf hingewiesen, um wieviel höher die Aviditäten bei den schweren Typhusfällen sind, obwohl die Titer nicht viel andere, jedenfalls

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, Heft 3.

nicht höher sind wie bei den leichten Fällen. Vergleicht man ferner die bei den schweren Fällen gewonnenen Zahlen mit den früher besprochenen Resultaten an Kaninchen, so leuchtet ein, daß dieselben sich viel mehr denjenigen Versuchsergebnissen anschließen, die bei subkutaner Injektion erhalten wurden, wie den bei intraperitonealer gewonnenen. Denn auch hier finden wir ja, wie bei den Subkutanversuchen am Tier, hohe Aviditäten bei niedrigem Titer.

Diese eben besprochenen Beziehungen zwischen der Art der Immunisierung und den Verhältnissen von Titer und Avidität lenken gewiß auch insofern die Aufmerksamkeit auf sich, als es bei der Herstellung von Seren für therapeutische Zwecke vielleicht nicht ganz gleichgültig ist, ob man die zur Erzielung von therapeutisch zu verwendenden Seren immunisierten Tiere subkutan oder intraperitoneal vorbehandelt, da es möglich erscheint, durch die subkutane Immunisierung avidere Sera, wenn auch von weniger hohem Titer, zu erhalten. Natürlich kann aber diese zunächst nur am Kaninchen und für die Agglutinine gemachte Beobachtung nicht ohne weiteres verallgemeinert werden.

Zusammenfassung.

- 1) Durch subkutane Injektion geringer Mengen einer Typhus-Lecithinemulsion ist es mir nicht gelungen, Sera mit höherem Titer als bei den Kontrolltieren zu erzielen.
- 2) Infolgedessen waren auch keine Differenzen in der Höhe der Absorptionsquotienten bei den, wie unter 1) angeführt, auf verschiedene Weise immunisierten Tieren zu erwarten.
- 3) Bei subkutan, einerlei ob mit einer Typhus-Lecithinemulsion oder mit einer nativen Aufschwemmung immunisierten Tieren wurde Sera mit auffallend hoher Avidität bei niedrigem Titer gewonnen.
- 4) Beim typhuskranken Menschen fanden sich in schweren Fällen hohe Aviditäten bei relativ niedrigem Titer, in leichten Fällen dagegen niedrige Aviditäten.

Nachdruck verboten.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de
Lausanne.]

Recherches sur les précipitines du miel.

Par Galli-Valerio et M. Bornand.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Juni 1910.)

Le miel est l'objet de très nombreuses falsifications. L'analyse chimique n'est pas suffisante pour pouvoir les découvrir. Il était donc naturel de chercher à la compléter par d'autres procédés, qui ont acquis aujourd'hui une grande importance pour le contrôle de certaines denrées alimentaires.

C'est dans cette idée que Langer¹⁾ a pensé d'appliquer au miel le procédé biologique pour la différenciation des albumines.

Comme on sait, l'analyse chimique a démontré dans le miel, la présence d'albumine. Ainsi König²⁾ a trouvé, dans du miel naturel, des quantités d'albumine variant de 0,03 à 2,67 ‰, en moyenne 1,42 ‰.

Nous avons dosé l'albumine d'un certain nombre de miels par la méthode de Kjeldahl et nous en avons trouvé les proportions suivantes:

Miel France No. 1	0,192 ‰
„ France No. 2	0,236 „
„ Canada	0,246 „
„ Aclens	0,306 „
„ Lausanne	0,321 „
„ Orny	0,332 „
„ Veytaux	0,341 „
„ Evolène	0,375 „
„ Schwytz	0,376 „
„ Sierre	0,385 „
„ Mézières	0,394 „
„ Valais	0,411 „
„ Mont s/Lausanne	0,413 „
„ Genève No. 1	0,428 „
„ Vex	0,446 „
„ Lens	0,462 „
„ Pithiviers (France)	0,520 „
„ Bramois	0,525 „
„ Genève No. 2	0,612 „

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 71, 1909, p. 308.

2) Cité par Lund: Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, Bd. 17, 1909, p. 128.

Lund¹⁾ par un procédé de recherche approximatif, qui consiste à faire une solution à 10 % du miel à examiner, en introduire, après filtration, dans une éprouvette graduée 20 c. c., y ajouter 5 c. c. d'une solution de tannin à 0,5 %, et compléter à 40 c. c., avec de l'eau distillée, mélanger et laisser reposer 24h, en inclinant le tube légèrement, a trouvé que pour un miel naturel, on obtient un précipité de tannate d'albumine variant entre 1,60 et 2,30 c. c., tandis que pour un miel falsifié le précipité n'est que de 0—0,3 c. c.

En appliquant ce procédé à quelques miels, et à des mélanges de miel et mélasse, nous avons trouvé les chiffres suivants:

Mélange de mélasse 10 et de miel 1	0 c. c.
2 " " " 1	0,3 "
Miel France No. 1	0,8 "
" Lausanne	1,8 "
" St. Luc	2,0 "
" Schwytz	2,5 "
" France No. 2	0,2 "
" Pithiviers	2,0 "

Etait-il possible de préparer des sérums précipitants pour l'albumine du miel?

Pour y arriver, Langer²⁾ qui au premier abord s'était servi pour inoculer les lapins d'une solution d'un précipité alcoolique de miel, a employé pour séparer l'albumine la technique suivante:

Une quantité donnée de miel est dialysée pendant 24h. Le dialysé est traité par du sulfate d'ammonium en poudre, et en excès pendant 24 heures; le précipité obtenu est filtré puis dissous dans un peu d'eau et dialysé encore une fois pour enlever le sulfate d'ammonium en excès.

Le liquide est utilisé immédiatement pour l'inoculation au lapin, ou gardé à la glacière après adjonction de 0,5 % de toluol. Les lapins reçoivent des inoculations de 6 à 15 c. c. tous les 6 jours et sont tués 6 jours après la 5^e ou 6^e injection.

Pour la recherche des précipitines, Langer mélange différentes dilutions de miel à la dose de 1 c. c. avec 1 c. c. d'antisérum, une goutte de toluol, place à l'étuve à 37° pendant 5 heures, puis centrifuge pour mesurer le précipité.

1) Travail cité.

2) Travail cité, p. 317.

En procédant ainsi, Langer a pu constater :

1) Que l'inoculation au lapin de l'albumine du miel, provoque la formation d'un sérum précipitant spécifique.

2) Que la précipitation s'observe surtout à certains degrés de dilution du miel (1:6). Langer a pu obtenir aussi la précipitation en traitant de la même façon des solutions de miel dialysé et il a constaté que le sérum de lapins inoculés avec l'albumine de miel précipite l'extrait d'abeille, et vice-versa que les sérums des lapins inoculés avec l'albumine d'abeille précipite des dilutions de miel mais ces sérums ne précipitent pas le miel de Bourdon (*Bombus* sp.).

De ses intéressantes recherches, Langer conclue que le procédé biologique, associé aux procédés cliniques, peut rendre de bons services dans le contrôle du miel.

Il nous a paru intéressant de contrôler les recherches de Langer et nous exposerons ici le résultat de nos recherches personnelles ¹⁾.

I. Technique.

La technique que nous avons employée a été la suivante.

a) Pour la préparation de l'albumine pour l'inoculation des lapins :

L'albumine du miel était préparée suivant la technique indiquée par Langer, c. a. d. : 280 gr. de miel étaient dialysés. Au dialysé, on ajoutait le 30 % de sulfate d'ammonium en poudre et on laissait reposer 24 heures. On filtrait, dissolvait le précipité dans un peu d'eau (50 c. c. pour 250 gr. de miel), on dialysait encore une fois pendant 24 heures pour séparer l'excès de sulfate d'ammonium et on y ajoutait 0,5 % de toluol. L'albumine ainsi préparée était conservée dans une armoire à circulation d'eau.

A ce procédé nous avons apporté une petite modification qui rend plus facile la séparation de l'albumine. Après avoir dialysé le miel, on plaçait le liquide contenant l'albumine dans un entonnoir à robinet, séparateur, (Scheidetrichter) avec la quantité indiquée de sulfate d'ammonium ; après agitation, on laissait reposer 24 heures ; au bout de ce temps,

1) Une communication préalable a déjà été faite par nous le 26 janvier 1910 à la Société vaudoise des sciences naturelles. (Procès verbaux 1910.)

le précipité formé était rassemblé entièrement au fond du séparateur, et il était extrêmement facile de le recueillir, de le dissoudre dans un peu d'eau distillée, puis de le dialyser 24 heures pour enlever l'excès de sulfate d'ammonium.

L'albumine d'abeilles a été préparée en triturant 16 abeilles dans 35 c. c. de solution physiologique et en y ajoutant 0,5 % de toluol.

b) Pour l'inoculation aux lapins nous avons pratiqué des inoculations souscutanées à la face interne de la cuisse, variant de 5—10 c.c. de solutions d'albumine, espacées entre elles de 4 à 6—7 jours.

Sauf dans un cas, nous n'avons jamais remarqué ni phénomènes locaux, ni généraux chez les lapins ainsi inoculés. Après avoir constaté le pouvoir précipitant du sérum par une prise de sang faite à l'oreille, on saignait l'animal, en lui ouvrant, en narcose, la cage thoracique, et recueillant le sang par section du cœur suivant la technique de Uhlenhuth¹⁾. On gardait le sang dans un Erlenmeyer stérilisé ou dans la cylindre de Wassermann petit modèle, qui se prête fort bien pour la séparation du sérum. Le sérum préalablement centrifugé a été employé immédiatement après sa séparation ou bien conservé au chloroforme, ou filtré sur bougie Silberschmidt.

c) Pour la réaction précipitante nous avons procédé comme suit:

Des éprouvettes capillaires coniques de 11 cm de long à diamètre supérieur de 6 mm et inférieur de 2 mm, recevaient la solution à précipiter et le sérum précipitant.

Ayant constaté qu'un mélange de $\frac{2}{10}$ de la solution de miel à 1:6 et de $\frac{2}{10}$ de sérum précipitant donnait de très bons résultats pour le diagnostic, nous avons renoncé à l'emploi de fortes doses (1 c.c.) utilisées par Langer, chose qui facilite l'expérience et permet de mieux utiliser le sérum. Lorsque nous avons expérimenté avec de l'albumine d'abeille ou de bourdon, nous avons utilisé huit à dix têtes et thorax ou huit à dix abdomens d'abeilles et une à deux têtes et thorax et abdomens de bourdon écrasés dans 5 c.c. de solution physiologique, filtrés et dilués 1:6.

1) Uhlenhuth u. Weidanz, *Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens*, Jena 1909, p. 207.

Dans la grande majorité des cas, nous avons comme Langer placé les éprouvettes ainsi préparées et celles de contrôle à l'étuve à 37° pendant 5 heures et ensuite nous avons centrifugé pour mesurer la quantité de précipité formé. Nous avons pourtant constaté, qu'avec de bons sérums précipitants, la réaction s'observe même après 1 heure et qu'elle peut s'obtenir aussi à la température ordinaire (18—20°). Le précipité obtenu après centrifugation des éprouvettes était mesuré avec un compas, en plaçant l'éprouvette contre une surface noire et nous l'indiquons en millimètres.

II. Expériences.

Voici en résumé les résultats de nos expériences¹⁾.

I^{re} Série. Lapin de 2500 g, préparé avec l'albumine extraite d'un mélange de différents miels.

9/XII. 1909 5 c.c., 15/XII. 5 c.c., 22/XII. 10 c.c., 29/XII. prise de sang à l'oreille.

Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions		Observations
	1 : 3	1 : 6	
1) Miel St-Luc	+	+	Dans les dilutions de miel, le trouble apparaît déjà après 2 ^e à l'étuve
2) Mélasse	—	—	
3) Contrôles	—	—	

30/XII. 5 c.c., 5/I. 1910 5 c.c.

13/I. 1910 Tué le lapin et récolté le sérum.

15/I. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions			Observations
	1 : 3	1 : 6	1 : 12	
1) Miel St-Luc	2 $\frac{1}{2}$ mill.	2 $\frac{1}{2}$ mill.	$\frac{2}{4}$ mill.	Ces expériences ont été faites avec des éprouvettes non encore bien calibrées, de sorte que les mensurations du précipité ne sont que relatives
2) „ Lausanne	2 „	2 „	$\frac{2}{4}$ „	
3) „ France No. 1	2 „	2 „	$\frac{2}{4}$ „	
4) Mielline	$\frac{1}{2}$ „	1 „	$\frac{1}{2}$ „	
5) Sirop de miel	$\frac{1}{2}$ „	1 „	$\frac{1}{2}$ „	
6) Mélange de Miel St-Luc (1) et de mé- lasse (2)	$\frac{2}{4}$ „	1 „	$\frac{2}{4}$ „	
7) Mélasse	—	—	—	
8) Albumine de cobaye	—	—	—	
9) Contrôles	—	—	—	

1) Dans les tables le signe + indique précipitation, le signe — absence de précipitation.

19/I. Sérum du 13/I. gardé avec quelques gouttes de chloroforme, mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Mélange de Miel St-Luc (1 partie) avec mélasse (10 parties)	$\frac{1}{4}$ mill.	
2) Mélasse	—	
3) Contrôles	—	

22/I. Sérum du 13/I. gardé comme dans l'expérience précédente. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Mélange Miel St-Luc (1 partie) et mélasse (15 parties)	Traces	Dans les essais 1 et 2, les précipités sont bien visibles, mais non mesurables
2) Mélange 1 : 20	Traces	
3) Mélasse	—	
4) Contrôles	—	

25/I. Sérum du 13/I. gardé comme pour les expériences précédentes. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Mélange Miel St-Luc (1 p.), mélasse (30 p.)	Très faibles traces	
2) Mélasse	—	
3) Contrôles	—	

1^{re}/II. Sérum du 13/I. gardé comme dans les expériences précédentes. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel St-Luc	2 mill.	—
2) Mélasse	—	—
3) Contrôles	—	—

II. Série. Lapin de 2800 g, préparé avec de l'albumine extraite du miel de Lausanne.

28/I. 5 c.c., 3/II. 5 c.c., 10/II. 5 c.c., 15/II. 5 c.c.

18/II. Prise de sang à l'oreille.

19/II. Mélanges à $\frac{1}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel St-Luc	—	
2) „ St-Luc (1 p.), mélasse (2 p.)	—	
3) Mélasse	—	
4) Contrôles	—	

21/II. 10 c. c.

24/II. Prise de sang à l'oreille, mélange à $\frac{2}{10}$ de c. c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel St-Luc	—	
2) Mélasse	—	
3) Contrôles	—	

25/II. 5 c. c.

2/III. Prise de sang à l'oreille. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c. c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel St-Luc	—	
2) Mélasse	—	
3) Contrôles	—	

A la suite de ces résultats négatifs, dûs probablement au fait d'une séparation d'albumine du miel non réussie, nous avons recommencé l'immunisation de ce lapin avec de l'albumine extraite d'un miel du Mont sur Lausanne.

19/III. 5 c. c., 24/III. 5 c. c., 29/III. 5 c. c., 4/IV. 5 c. c., 7/IV. 5 c. c.

11/IV. Prise de sang à l'oreille.

12/IV. Mélanges à $\frac{1}{10}$ de c. c., placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel du Mont	$1\frac{1}{2}$ mill.	Le précipité s'est formé
2) Mélasse	—	déjà $\frac{1}{2}$ heure après
3) Contrôles	—	le mélange

12/V. Prise de sang à l'oreille.

13/V. Mélanges à $\frac{2}{10}$ et à $\frac{1}{10}$ de c. c. à 37° et à la température de la chambre.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel du Mont $\frac{2}{10}$ à 37°	2 mill.	Déjà après 1 ^h , il y a
2) " $\frac{2}{10}$ à 20°	2 "	formation de pré-
3) " du Mont $\frac{1}{10}$ à 37°	1 "	cipité
4) " du Mont à 20°	1 "	
5) Mélasse à 37°	—	
6) " à 20°	—	
7) Contrôles à 37° et à 20°	—	

23/V. Prise de sang à l'oreille. Le sérum a donné résultat complètement négatif. Il avait perdu son pouvoir précipitant.

III^e Série. Lapin de 2500 gr., préparé avec de l'albumine extraite du miel du Mont.

19/III. 5 c. c., 24/III. 5 c. c., 29/III. 5 c. c., 4/IV. 5 c. c., 7/IV. 8 c. c.

11/IV. Prise de sang à l'oreille.

12/IV. Mélanges à $\frac{2}{10}$ et $\frac{1}{10}$ de c. c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel du Mont $\frac{2}{10}$ c. c.	2 $\frac{1}{2}$ mill.	Le précipité apparaît déjà après $\frac{1}{2}$ h
2) " " " $\frac{1}{10}$ "	2 "	
3) Mélasse	—	
4) Contrôles	—	

13/IV. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c. c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel du Mont	2 mill.	Après $\frac{1}{2}$ h présence d'un précipité
2) Mélasse	—	
3) Contrôles	—	

13/IV. Tué le lapin et recueilli le sérum.

15/IV. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c. c. à 37° et à la température de la chambre (20°).

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
a) Avec sérum non filtré.		
1) Miel Valteline (37°)	2 mill.	Déjà après $\frac{1}{2}$ h formation d'un précipité
2) " Veytaux "	2 "	
3) " Mézières "	2 "	
4) " Orny "	2 "	
5) " " (20°)	2 "	
6) " Penthaz (37°)	2 "	
7) " " (20°)	2 "	
8) " Genève No. 1 (37°)	2 "	
9) " Valais (37°)	1 $\frac{1}{2}$ "	
10) " Isérables "	2 "	
11) " " (20°)	2 "	
12) " Evolène (37°)	2 "	
13) " " (20°)	2 "	
14) " St-Luc (37°)	2 "	
15) " Sierre "	2 "	
16) " " (20°)	2 "	
17) " Ardon (37°)	1 $\frac{1}{2}$ "	
18) " Sion "	2 "	
19) " Schwytz "	2 "	
20) " " (20°)	2 "	
21) " France No. 1 (37°)	1 $\frac{1}{2}$ "	
22) " Bramois "	2 "	
23) " Aclens "	1 $\frac{1}{2}$ "	
24) " Genève No. 2 "	2 "	
25) " Lens "	2 "	
26) " Mont "	2 "	
27) " Mont chauffé à 70° (37°)	2 "	
28) " Lausanne (37°)	2 "	

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
29) Vex (37°)	2 mill.	
30) Mielline "	1 "	
31) Miel artificiel "	Traces	
32) " (20°)	Traces	
33) Sirop de " miel	Faibles traces	
Miel Mont 1 part., Mélasse 1 part.	1 1/2 mill.	
" " 1 " " 5 "	1 "	
" " 1 " " 10 "	1/2 "	
" " 1 " " 20 "	Traces	
" " 1 " " 30 "	Traces	
" " 1 " " 50 "	Faibles traces	
" " 1 " " 100 "	Très faibles traces	
" " 1 " " 1000 "	—	
Mélasse à 37°	—	
" à 20°	—	
Contrôles à 37° et à 20°	—	

b) Avec sérum filtré.

1) Miel Valteline (37°)	1 1/2 mill.	
2) " " (20°)	1 1/2 "	
3) " Mont (37°)	2 "	
4) " " (20°)	2 "	
5) Mélange de miel du Mont 1 part. + mélasse 10 part.	1/2 "	
6) Mélasse (37°)	—	
7) " (20°)	—	
8) Contrôles à 37° et à 20°	—	

26/IV. Sérum du 13/IV. gardé avec quelques gouttes de chloroforme.
Mélanges à 2/10 de c. c. Placés à 20° et à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel du Mont	2 mill.	
2) Extrait têtes et thorax d'abeilles	léger précipité	
3) Extrait d'abdomen d'abeilles	" "	Ces bourdons avaient été utilisés immédiatement après leur capture
4) Extrait têtes et thorax de bourdon	" "	
5) Extrait d'abdomen de bourdon	" "	
6) Mélasse	—	
7) Contrôles	—	

IV• Série. Lapin de 2500 g., préparé avec de l'albumine extraite du miel du Mont qui a été chauffé pendant un quart d'heure entre 60° et 70°.

30/IV. 5 c. c., 4/V. 5 c. c., 9/V. 10 c. c.

L'animal a succombé après la dernière inoculation, le sérum a été récolté le 10/V.

Mélanges à 2/10 de c. c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1 : 6	Observations
1) Miel du Mont non chauffé	2 mill.	—
2) " " chauffé	2 "	—
1/4 d'h. entre 60° et 70°		
3) Miel du Canada	1 "	—
4) Mélasse	—	—
5) Contrôles	—	—

V^e Série. Lapin de 2500 g., inoculé avec l'extrait de 16 abeilles broyées avec 35 c.c. de solution physiologique.

29/IV. 5 c.c., 4/V. 5 c.c., 9/V. 10 c.c., 13/V. 8 c.c.

16/V. Prise de sang à l'oreille.

17/V. Mélanges à $\frac{2}{10}$ de c.c. Placés à 37°.

Solutions employées	Dilutions 1:6	Observations
1) Miel du Mont	2 mill.	Le précipité est très marqué déjà après 2 ^h dans 1 et dans 2; dans les autres il apparaît plus tard
2) Extrait tête et thorax d'abeilles	1 „	
3) Extrait abdomen d'abeilles	$\frac{3}{4}$ „	Le bourdon avait été gardé 8 jours au laboratoire, et nourri exclusivement avec de l'eau sucrée
4) Extrait tête et thorax de bourdon	—	
5) Extrait abdomen bourdon	—	

Les cinq séries d'expériences dont nous avons rendu compte, démontrent les faits suivants:

1) Que le sérum de lapin immunisé par l'inoculation d'albumine de miel extraite par le procédé de Langer, précipite l'albumine du miel, même chauffé $\frac{1}{4}$ d'heure entre 60 et 70°; surtout si on emploie des dilutions de miel de 1:6 à la dose de $\frac{2}{10}$ de c.c., mélangés avec $\frac{2}{10}$ du sérum précipitant et cela soit à la température ordinaire, soit à la température de 37°.

2) Que la quantité de précipité obtenue est en moyenne de $1\frac{1}{2}$ à 2 millimètres, en employant les éprouvettes que nous avons fait construire. La plus grande partie des miels avec lesquels nous avons expérimenté a donné 2 mill. La quantité de précipité a été en relation avec la quantité d'albumine décélée par l'analyse chimique dans quelques-uns de ces miels.

3) Que dans les falsifications des miels, dans lesquels il existe un peu de cette substance, le précipité n'était représenté que par des traces où au maximum par 1 mill.

4) Que dans la mélasse on n'observe aucun précipité. Si on fait des mélanges de miel et de mélasse, on constate déjà que pour des mélanges d'1 partie de miel pour 20 de mélasse, il n'y a que des traces de précipité.

5) Que ce sérum peut précipiter les extraits d'abeilles et même de bourdons.

6) Que le sérum d'un lapin immunisé avec l'extrait d'abeilles a précipité l'albumine du miel, et l'extrait d'abeilles, mais non celui de bourdon.

Nous nous garderons bien de nous prononcer sur cette question de précipitation réciproque entre miels, extrait d'abeilles et de bourdons, car nos expériences sont trop peu nombreuses pour pouvoir le faire, et il est difficile de dire quel est le rôle qui a été joué dans la précipitation par les substances alimentaires dont les abeilles et les bourdons s'étaient nourris.

Le procédé des précipitines nous semble destiné à occuper une place dans le contrôle du miel à côté des procédés chimiques.

Le sérum précipitant plutôt que gardé dans le lapin vivant, chose qui entraîne la disparition du pouvoir précipitant après environ 2 mois sera gardé, ou avec le chloroforme ou mieux encore, après filtration sur bougie Silberschmidt.

Comme simple renseignement nous noterons qu'ayant essayé dans un cas la fixation du complément, en employant comme antigène l'albumine du miel, nous avons obtenu une fixation positive¹⁾.

Quant à la réaction d'anaphylaxie, des cobayes inoculés sous la peau avec l'albumine extraite par la méthode de Langer, sont morts fortement amaigris quelques jours après la première inoculation.

Un seul a résisté et inoculé 20 jours après, il a succombé dans les 24 heures. Nous ne pouvons donc pas pour le moment nous prononcer sur l'utilisation de l'anaphylaxie pour le diagnostic du miel.

Zusammenfassung.

Mit Einspritzungen von Honig-eiweiß bei Kaninchen ist es möglich, präzipitierende Sera zu gewinnen, die auf Honig-eiweiß spezifisch wirken. Das biologische Eiweißdifferenzierungsverfahren kann also auch für Honigkontrolle verwendet werden.

1) Il nous avait échappé un travail de Walther Carl (Zeitschr. f. Immunitätsforsch., I. Teil, Orig., Bd. 4, Heft 5) qui a aussi obtenu fixation du complément positive.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Untersuchungsamt der Stadt Berlin (Direktor:
Geh. Reg.-Rat Prof. Proskauer).]

Weitere Untersuchungen zur Biologie der Enteritis- bakterien.

Von **G. Sobernheim** und **E. Seligmann**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Juni 1910.)

In einer vorhergehenden Arbeit¹⁾ hatten wir Befunde mitgeteilt, die sich mit der bisher geltenden Lehre von der Spezifität der Agglutination nur schwer in Einklang bringen ließen. Studien über das agglutinatorische Verhalten der Enteritisbacillen (Paratyphus B und Gärtner-Typus) hatten uns gezeigt, daß im allgemeinen zwar eine scharfe Differenzierung dieser Gruppe von Bakterien in Untergruppen mit Hilfe der Agglutination möglich ist, daß es aber Vertreter gibt, die gewissermaßen einen Uebergang darstellen von Paratyphus B zum Gärtner-Bacillus, insofern als Kulturen dieser Art im wesentlichen agglutinabel für Gärtner-Sera waren, während ihr antigenes Verhalten sie dem Typus Paratyphus B zuwies; Kulturen also, die eine Differenz der agglutininbildenden und -bindenden Eigenschaften zeigten. Diese Bakterienstämme, zu denen der Bacillus Aertryck, der Mäuse-typhus, der Stamm Moskau III und andere unserer Sammlung gehörten, zeigten zum Teil auch gewisse Abweichungen vom typischen kulturellen und biochemischen Verhalten, so daß sich uns die Folgerung aufdrängte, nicht etwa die Spezifität der Agglutination in der Enteritisgruppe ohne weiteres aufzugeben, vielmehr das Vorkommen von Umwandlungs- bzw. Uebergangsprozessen in dieser Gruppe für wahrscheinlich zu halten. Diese Annahme, die schon öfter gemacht, aber bisher nicht bewiesen werden konnte, haben wir neuerdings auf eine andere Art zu stützen versucht, indem wir nämlich eine zweite biologische Methode zur Prüfung heranzogen, die Komplementbindungsreaktion. Konnten wir auch mit

1) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 6, H. 2/3.

dieser Methode entsprechende Befunde erheben, so hatten wir ein weiteres Beweismittel, daß die fraglichen Kulturen sich in einem besonderen biologischen Zustande befinden, dem gegenüber die sonst artbestimmenden Reaktionen nicht ausreichen. Gelang es dagegen nicht, mit der Komplementbindung die Ergebnisse der Agglutinationsprüfung zu bestätigen, so lag die andere Konsequenz näher, der Agglutination in der Enteritisgruppe den streng spezifischen Charakter abzusprechen.

Ob die Komplementbindungsreaktion für die Differenzierung von Bakterieneiweiß überhaupt geeignet ist, könnte nach den widerspruchsvollen Resultaten in der Vibrionengruppe und in der Gruppe der säurefesten Bacillen zweifelhaft erscheinen; die Arbeiten von Sacquépée¹⁾ und Altmann²⁾ sprechen jedoch dafür, daß man mit dieser Methode in der Enteritisgruppe weiterkommt. Beiden Forschern war es gelungen, Paratyphusbacillen und Gärtner-Bacillen streng zu trennen und ein Resultat zu erzielen, das der Agglutination im allgemeinen entsprach. Die Zahl der geprüften Paratyphusstämmen ist bei beiden Autoren nicht zu klein, von Gärtner-Stämmen dagegen untersuchte Sacquépée nur drei (darunter den Stamm Morseele), Altmann fünf (drei Rattenschädlinge, Morseele und Brügge). Wir haben bereits früher³⁾ mitgeteilt, daß auch unter den eigentlichen Gärtner-Bacillen sich noch gewisse Untergruppen herauschälen lassen; es will uns scheinen, als ob beide Autoren ausschließlich mit den Vertretern nur einer dieser Gruppen, zu der besonders die Rattenschädlinge gehören, gearbeitet haben. Wir haben deshalb für unsere Versuche Repräsentanten der verschiedenen Unterarten herangezogen und infolgedessen wohl etwas abweichende Resultate erhalten.

Versuchstechnik.

Als Antigen benutzten wir Schüttelextrakte von 24-stündigen Agarkulturen. Je eine Kollesche Schale wurde mit 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Die

1) C. R. Soc. biol., Bd. 2, 1907, p. 421.

2) Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 1910, p. 174.

3) l. c.

Aufschwemmung wurde nach Karbolzusatz (0,5-proz.) 48 Stunden geschüttelt, darauf bis zur völligen Klarheit zentrifugiert.

Als Antikörper dienten die in der früheren Arbeit bereits näher charakterisierten Sera, die durch 3—4malige intravenöse Vorbehandlung von Kaninchen gewonnen waren. Die Sera, die karbolisiert waren und zu den früheren Agglutinationsversuchen gedient hatten, waren sämtlich nicht unter $\frac{1}{4}$ Jahr und bis zu $1\frac{1}{2}$ Jahren alt.

Zum hämolytischen System wählten wir: Hammelblut, Kaninchenambozeptor (4—5-fach lösende Dosis) und Meer-schweinchenkomplement (0,1 ccm). Antigen, Antikörper und Komplement wirkten bei Brutschranktemperatur 1 Stunde aufeinander ein, dann erfolgte der Zusatz von sensibilisierten Blutkörperchen. Notierung des Resultats nach weiterem ein-stündigen Aufenthalt bei 37° und Kontrolle nach 24 Stunden Eisschranksaufbewahrung.

Versuchsergebnisse.

An Paratyphus-Stämmen prüften wir¹⁾:

Paratyphus B	Halle
"	" Königsberg
"	" Hulda
"	" Saarbrücken
"	" 15a

An Gärtner-Stämmen:

Gärtner J.	G. A. N. 13	13 ⁴
B.	Ent. Halle	Enteritis Spickgans
Hellmuth Fr.	Gärtner alt	Rattenseuche Schern
Gärtner Fr.		(Die letzten drei gehören zur sog. Rattengruppe)

An „Doppelstämmen“:

Aertryck F.
Mäusetyphus
Moskau III

Als Sera benutzten wir:

Paratyphus B: Hulda	Gärtner: Gärtner alt	} mit lebenden Kul- turen gewonnen
Königsberg	Ent. Halle	
Halle	Drigalski	
Saarbrücken	G. A. N. 13	
15a	13 ⁴	} mit toten Kulturen gewonnen
	Rattenseuche	
	Schern	

1) Bezüglich der Eigenschaften dieser Stämme verweisen wir auf die frühere Arbeit.

Doppelstammsera:

Aertryck vom 17./4. (reines Doppelstammserum)
 Mäusetyphus } Sera von ausgesprochenem Paratyphus-
 Moskau 3a } B-Charakter

Die Versuche mit den angeführten Seris und Extrakten sind sämtlich mehrmals wiederholt worden. Jedes Serum, dessen Eigenschaften festgestellt werden sollten, wurde gleichzeitig mit den verschiedenen Extrakten geprüft, und diese wiederum wurden mit einem schon ausgeprobten Serum gleichzeitig auf ihre Bindungskraft kontrolliert, so daß jeder Versuch eines Tages in sich geschlossen erscheint. Wir heben dies hervor, weil wir gefunden haben, daß die quantitativen Werte im Versuche des einen Tages nicht ohne weiteres mit denen eines anderen Tages verglichen werden können. Eigenschaften des Komplementes, die nicht allein in seinen Mengenverhältnissen, vielleicht aber in gewissen Aviditätszuständen zu suchen sind, können die Resultate nicht unbeträchtlich verschieben. Auch dem Zustande der Blutkörperchen kommt ein schwer zu kontrollierender Einfluß zu. Aus diesen und anderen Gründen sind wir der Ansicht, daß, zum mindesten in der Enteritisgruppe, die Komplementbindungsmethode für eine Serumwertbestimmung wenig geeignet ist. Qualitative Differenzen aber lassen sich mit Sicherheit erheben.

So zeigte es sich, daß Paratyphussera in ausgesprochenster Weise mit Paratyphusextrakten, und nur mit diesen, Komplement binden, daß die Intensität der Bindung, ähnlich wie bei der Agglutination, für verschiedene Stämme und Sera im großen und ganzen ziemlich gleichmäßig ist, daß der Komplementbindungstiter unserer Sera jedoch den Agglutinationstiter bei weitem nicht erreichte: fast nie ging der Titer, der für die Agglutination 3—5000 beträgt, über 500—1000 hinaus. Mitbeeinflussung anderer Bakterienarten, speziell von Gärtner-Stämmen, war sehr selten und nie über eine Verdünnung von 1:50 hinaus nachweisbar; auch hier war die Hemmung der Hämolyse dann meist keine vollkommene.

Wir geben im folgenden das Protokoll eines solchen Versuches und verzichten auf die Wiedergabe der übrigen, die prinzipiell gleichartig ausgefallen sind:

Prüfung des Serums von Paratyphus B Halle.

Extrakt	Serum	Komple- ment	Sensibil. Blut- körperch.	Resultat
0	0	0,1	Blutkörperchenaufschwemmung, Zusatz von 1 cem 5-proz. Ambozeptor 1:600 (Titer 1:2400).	komplett
Parat. Halle 0,4	0	0,1		
" " 0,2	0	0,1		kl. Kuppe
" " 0,1	0	0,1		
" Königsberg 0,4	0	0,1		komplett
" " 0,2	0	0,1		
" " 0,1	0	0,1		Kuppe
" Hulda 0,4	0	0,1		
" " 0,2	0	0,1		fast komplett
" " 0,1	0	0,1		
Gärtner alt 0,4	0	0,1		komplett
" " 0,2	0	0,1		
" " 0,1	0	0,1		Kuppe
13 ⁴ " 0,4	0	0,1		
13 ⁴ 0,2	0	0,1	Brutschrankaufenthalt sensibilisiert mit Ambozeptor 1:600	komplett
13 ⁴ 0,1	0	0,1		
0	Parat. Halle 1:20	0,1		komplett
0	" " 1:40	0,1		
Parat. Halle 0,1	Parat. Halle 1:40	0,1		ungelöst
" "	" " 1:80	0,1		
" "	" " 1:160	0,1		
" "	" " 1:200	0,1		
Parat. Königsberg 0,1	Parat. Halle 1:40	0,1		ungelöst
" "	" " 1:80	0,1		
" "	" " 1:160	0,1		
" "	" " 1:200	0,1		
Parat. Hulda 0,1	Parat. Halle 1:40	0,1		ungelöst
" "	" " 1:80	0,1		
" "	" " 1:160	0,1		
" "	" " 1:200	0,1		
Gärtner alt 0,1	Parat. Halle 1:40	0,1		komplett
" "	" " 1:80	0,1		
" "	" " 1:160	0,1		
13 ⁴ 0,1	" " 1:40	0,1		
" "	" " 1:80	0,1	Überall nach einstündigem	komplett
" "	" " 1:160	0,1		
Gärtner alt 0,1	Gärtner alt 1:100	0,1		ungelöst
13 ⁴ 0,1	13 ⁴ " 1:200	0,1		
" "	13 ⁴ " 1:100	0,1		
" "	13 ⁴ " 1:200	0,1		
0	Gärtner alt 1:20	0,1		komplett
0	13 ⁴ 1:20	0,1		
Parat. Halle 0,1	Gärtner alt 1:40	0,1		komplett
" "	" " 1:80	0,1		
" "	" " 1:160	0,1		
" "	13 ⁴ " 1:40	0,1		
" "	13 ⁴ " 1:80	0,1		
" "	13 ⁴ " 1:160	0,1		
" "	13 ⁴ " 1:160	0,1		

Das Protokoll zeigt, wie das Serum Paratyphus B Halle mit dem homologen Stamm und den anderen Paratyphen Komplement bindet, wie es dagegen Gärtner-Stämme gar nicht oder nur schwach beeinflußt. Weitere Kontrollen lehren, daß diese Gärtner-Stämme mit ihrem eigenen Serum sehr gut reagieren, und daß der Paratyphus Halle seinerseits von Gärtner-Seris nicht beeinflußt wird.

In der Gärtner-Gruppe der Enteritisbakterien, die mit der gleichen Methodik untersucht wurde, liegen die Verhältnisse etwas komplizierter. Lassen wir die später zu besprechenden „Doppelstämme“ aus dem Spiel, so können wir zunächst sagen: Gärtner-Sera beeinflussen Gärtner-Stämme, nicht aber Paratyphusbacillen. Damit scheint auch durch die Komplementbindungsreaktion ebenso wie durch die Agglutination die Spezifität dieser Gruppe im allgemeinen bestätigt.

Agglutinationsbefunde hatten uns aber bereits angedeutet, daß in der Gärtner-Gruppe möglicherweise die „Rattengruppe“, zu der die Rattenschädlinge und eine Reihe von Fleischvergiftern zählen (s. oben), eine Sonderstellung einnimmt; immerhin genügten die beobachteten Differenzen noch nicht zu einer Abtrennung dieser Unterart. Die Resultate der Komplementbindungsmethode aber sprechen unbedingt dafür, daß hier ein biologischer Sondertypus vorliegt. Denn „Rattenstammsera“ binden spezifisch und weitgehend Komplement nur mit Rattenstämmen, während die Vertreter der anderen Gruppe nur mit Seris ihrer eigenen Gruppe spezifische Reaktion geben. Das folgende Protokoll demonstriert ein solches Verhalten (die mit * bezeichneten Extrakte und Sera gehören zur Rattengruppe). (Siehe die Tabelle auf p. 348.)

Ganz analog verhalten sich die übrigen von uns geprüften Vertreter dieser beiden Hauptgruppen. Die Komplementbindungsmethode hat hier also sichtlich weiter geführt als die Agglutination, die die gleichen Verhältnisse nur andeutete.

Es scheint übrigens, — auch darauf hatte die Agglutination schon hingewiesen — als ob es Kulturen gibt, die sich dem Rattenstammtypus etwas annähern; obwohl sie unzweifel-

Extrakt	Serum	Komple- ment	Sensibil. Blut- körperch.	Resultat
0	0	0,1	Ueberall nach einstündigem Brutschrankaufenthalt Zusatz von 1 cem 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung, sensibilisiert mit Ambozeptor 1:600 (Titer 1:2400).	komplett
Gärtner J 0,2	0	0,1		fast kompl.
0,1	0	0,1		komplett
Gärtner Fr. 0,2	0	0,1		
0,1	0	0,1		fast kompl.
13 ⁴ * 0,2	0	0,1		komplett
0,1	0	0,1		ungelöst
Gärtner J 0,1	Drigalski-Serum 1:40	0,1		
"	" 1:120	0,1		fast kompl.
"	" 1:200	0,1		
"	Rattens.-Schern-Ser. * 1:50	0,1		ungelöst
"	" 1:150	0,1		
"	" 1:300	0,1		Spur gelöst
"	Gärtner-alt-Serum 1:40	0,1		
"	" 1:120	0,1		ungelöst
"	" 1:200	0,1		
Gärtner Fr. 0,1	Drigalski-Serum 1:40	0,1		fast kompl.
"	" 1:120	0,1		
"	" 1:200	0,1		komplett
"	Rattens.-Schern-Ser. * 1:50	0,1		
"	" 1:150	0,1		ungelöst
"	" 1:300	0,1		
"	Gärtner-alt-Serum 1:50	0,1		komplett
"	" 1:150	0,1		
"	" 1:300	0,1		Kuppe
13 ⁴ * 0,1	Drigalski-Serum 1:40	0,1		
"	" 1:120	0,1		komplett
"	" 1:200	0,1		
"	Rattens.-Schern-Ser. * 1:50	0,1		ungelöst
"	" 1:150	0,1		
"	" 1:300	0,1		komplett
"	Gärtner-alt-Serum 1:40	0,1		
"	" 1:120	0,1		komplett
"	" 1:200	0,1		
0	Drigalski-Serum 1:20	0,1		komplett
0	Rattens.-Schern-Ser. * 1:20	0,1		
0	Gärtner-alt-Serum 1:20	0,1		

haft dem anderen Typus angehören. Die betreffenden Stämme, zu denen beispielsweise unsere Kultur Enteritis Halle zählt, binden spezifisch und hoch mit den Seris ihrer Gruppe, zeigen aber eine nicht unbeträchtliche Mitbeeinflussung durch die Rattenstammsera (bis etwa 1:100); entsprechend verhalten sich ihre eigenen Sera zu den Rattenstämmen. Immerhin aber gelingt es ohne weiteres, solche Stämme in ihre Gruppe einzureihen.

Resumieren wir also, so läßt sich die Gärtner-Gruppe von der Paratyphus-B-Gruppe durch die Komplementbindungsreaktion scharf trennen; die Gärtner-Stämme selbst lassen sich weiterhin in zwei Typen scheiden, von denen der eine die sogenannte Rattengruppe darstellt.

Nun aber die Doppelstämme. Sie waren es, die bei der Agglutinationsprüfung die Gesetze der Spezifität zu durchbrechen schienen, indem sie, als ursprünglich echte Paratyphus-B-Kulturen, für Gärtner-Serum agglutinabel wurden. Einige, wie Moskau III, reagierten gleichmäßig auf Paratyphus- und Gärtner-Sera, andere, wie Mäusetyphus und Aertryck, typisch und hoch nur noch auf Gärtner-Sera, atypisch und unvollkommen dagegen auf einige Paratyphussera, auf andere gar nicht. Ihre Sera wirkten entweder nur auf derartige Doppelstämme (Serum Aertryck) oder aber außerdem noch mehr oder minder stark auf Paratyphusbacillen (Serum Mäusetyphus, Moskau III). Die Doppelstämme stellten demnach agglutinatorisch Gärtner-artige Bacillen dar, nach antigener Funktion aber Paratyphusbacillen.

Dieses sehr auffällige Verhalten kontrollierten wir nunmehr durch die Komplementbindungsreaktion:

Extrakt	Serum	Komplement	Sensibilis. Blutkörperch.	Resultat
0	0	0,1	Überall nach einstünd. Brutschrankaufenthalt Zusatz von 1 ccm 5-proz. Blutkörperchenaufschw. sensibil. mit Ambozeptor 1:600 (Titer 1:2400)	komplett
Aertryck 0,2	0	0,1		
" 0,1	0	0,1		
Gärtner alt 0,2	0	0,1		
" 0,1	0	0,1		
Parat. Hülde 0,2	0	0,1		
" Halle 0,1	0	0,1		
" " 0,1	0	0,1		
Aertryck 0,1	Aertryck-Serum 1:40	0,1	wie oben	ungelöst
" "	" 1:80	0,1		
" "	" 1:120	0,1		
" "	" 1:160	0,1		
" "	" 1:200	0,1		
Aertryck 0,1	Gärtner-alt-Ser. 1:40	0,1		große Kuppe komplett
" "	" 1:80	0,1		
" "	" 1:120	0,1		
" "	" 1:160	0,1		
" "	" 1:200	0,1		

Extrakt	Serum	Komple- ment	Sensibilis. Blut- körperchen	Resultat
Aertryck 0,1	Parat.-Hulda-Ser. 1 : 40	0,1	wie oben	} ungelöst fast kompl.
"	" 1 : 80	0,1		
"	" 1 : 120	0,1		
"	" 1 : 160	0,1		
"	" 1 : 200	0,1		
Aertryck 0,1	Parat.-Halle-Ser. 1 : 40	0,1		} komplett
"	" 1 : 80	0,1		
"	" 1 : 120	0,1		
"	" 1 : 160	0,1		
"	" 1 : 200	0,1		
0	Aertryck-Serum 1 : 20	0,1	wie oben	} komplett
0	Gärtner-alt-Ser. 1 : 20	0,1		
0	Parat.-Hulda-Ser. 1 : 20	0,1		
0	Parat.-Halle-Ser. 1 : 20	0,1		
Gärtner alt 0,1	Gärtner-alt-Ser. 1 : 120	0,1	wie oben	} ungelöst kompl.
"	" 1 : 200	0,1		
"	Aertryck-Serum 1 : 40	0,1		
"	" 1 : 80	0,1		
"	Parat.-Hulda-Ser. 1 : 40	0,1		
"	" 1 : 80	0,1		} kompl.
Parat. Hulda 0,1	Gärtner-alt-Ser. 1 : 40	0,1		
"	" 1 : 80	0,1		
"	Aertryck-Serum 1 : 40	0,1		
"	" 1 : 80	0,1		
"	Parat.-Hulda-Ser. 1 : 120	0,1		} ungelöst
"	" 1 : 200	0,1		
Parat. Halle 0,1	Gärtner-alt-Ser. 1 : 40	0,1		} kompl.
"	" 1 : 80	0,1		
"	Aertryck-Serum 1 : 40	0,1		
"	" 1 : 80	0,1		
"	Parat.-Halle-Ser. 1 : 120	0,1		
"	" 1 : 200	0,1		} ungelöst

Nach diesem Protokoll bindet der Stamm Aertryck Kom-
plement mit seinem homologen Serum, fast ebenso stark mit
Gärtner-alt-Serum, schwächer mit Paratyphus-Hulda-Serum
und gar nicht mit Paratyphus-Halle-Serum. Dies stimmt
fast quantitativ genau mit den agglutininbinden-
den Eigenschaften der Aertryck-Kultur überein¹⁾. Auch
hier versagte das Halle-Serum vollkommen, das Hulda-
Serum war schwach wirksam, während Gärtner-alt-Serum und

1) l. c.

das homologe Serum stark agglutinierend wirkten. Das zur Komplementbindung benutzte Aertryck-Serum, das im Agglutinationsversuch ein reines Doppelstammserum war, beeinflusste auch nach der jetzt geübten Methode weder Paratyphus- noch Gärtner-Kulturen.

Für den Aertryck-Stamm ergibt somit die Komplementbindungsreaktion eine volle Bestätigung des agglutinatorischen Verhaltens.

Aehnlich war das Resultat beim Stamm Moskau III¹⁾. Dieser Stamm bindet Komplement stark und in hohen Serumverdünnungen nur mit seinem homologen Serum, schwächer mit einigen Gärtner- und Paratyphusseris, gar nicht mit anderen Paratyphusseris. Er zeigt demnach gleichfalls Doppelstammcharakter. Die Uebereinstimmung mit der Agglutination ist indessen nicht so vollkommen wie beim Aertryck, da bei der Agglutination, im Gegensatz zur Komplementbindung, ein wesentlicher Unterschied von homologem, Gärtner- und Paratyphusserum nicht festzustellen war. Auch hier scheint also die Komplementbindungsreaktion einen tieferen Einblick in den Prozeß zu gestatten, als es die Agglutination vermochte. Dabei ist jedoch hervorzuheben, daß die Intensität der Bindung bei den Doppelstämmen überhaupt nicht sehr stark zu sein pflegt, selbst nicht gegenüber dem homologen Serum.

Auch der dritte der geprüften Doppelstämme, der Mäusetyphus, zeigte im Bindungsversuch ein ganz analoges Verhalten: starke Bindung nur mit dem homologen Serum, etwas schwächere mit den Seris anderer Doppelstämme und mit einigen Gärtner-Seris, gar keine Bindung mit Paratyphusseris. Während die Bindungsreaktion demnach eine nahezu völlige Uebereinstimmung mit dem Agglutinationsphänomen aufweist, äußert das Mäusetyphusserum eine etwas abweichende Wirkung. Agglutinatorisch beeinflusst es neben den Doppelstämmen die meisten Paratyphuskulturen typisch und hoch; im Komplementbindungsversuch dagegen wirkt es nur auf

1) Auf die Wiedergabe der ausführlichen Protokolle glauben wir hier, wie auch bei dem Stamm Mäusetyphus, verzichten zu können.

Doppelstämme, speziell auf den homologen Stamm, spezifisch und läßt Gärtner- wie auch Paratyphuskulturen unbeeinflußt. zeigt also, ähnlich wie das des Aertryck und Moskau III, ziemlich ausgesprochenen Charakter als Sondertypus.

Die mitgeteilten Versuche bestätigen, daß die agglutinatorisch aus dem Rahmen der Spezifität fallenden Doppelstämme auch bei der Prüfung mit einer anderen biologischen Methode sich als eigenartig erweisen, nämlich als Stämme, die zum Teil kaum noch den ursprünglichen Paratyphuscharakter erkennen lassen. Damit erhält die im Anfang dieser Arbeit angedeutete Ansicht eine weitere Stütze: Für die Enteritiskakterien ist nicht einfach die Spezifität der biologischen Serumreaktionen aufzugeben, vielmehr muß das Vorkommen biologischer Umwandlungsprozesse in dieser Gruppe des Bakterienreiches angenommen werden.

Zusammenfassung.

Durch die Komplementbindungsreaktion lassen sich in der Enteritisgruppe Paratyphus-B- und Gärtner-Bacillen trennen und die letzteren weiterhin in Typen zerlegen, von denen der eine die sogenannte „Rattengruppe“ vorstellt. Es gibt jedoch Stämme, die ebenso wie durch die Agglutination auch durch die Komplementbindung nicht identifiziert werden können, die vielmehr ihrem ganzen Wesen nach als Uebergangsstadien vom Paratyphus- zum Gärtnertypus gekennzeichnet sind.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.]

Weitere Erfahrungen mit vereinfachter Methode der Serundiagnose der Syphilis.

Von **Hideyo Noguchi.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Juni 1910.)

I. Bemerkungen zur Technik.

Schon bald nach der Veröffentlichung meiner Methode der Serundiagnose der Syphilis¹⁾ mit Hilfe des antimenschlichen hämolytischen Systems wurden in den Einzelheiten der Technik einige Verbesserungen vorgenommen, und die Beschreibung der seit Februar 1909 von mir angewandten Methode soll hier in Kürze gegeben werden.

Komplement. Zur Verwendung gelangt frisches Meer-schweinchenserum in Stärke von zwei Einheiten²⁾, gewöhnlich 0,1 ccm eines auf 40 Volumprozent verdünnten Serums für jedes Röhrchen. Entsprechend der Aktivität einer gegebenen Probe von komplementhaltigem Serum kann man dieses Quantum etwas vermehren oder vermindern, vorherige Titration ist jedoch nötig³⁾. Am vorteilhaftesten bedient man sich des Serums, nachdem es über Nacht mit dem eisgekühlten Gerinnsel in Berührung geblieben war, auch ist es zweckmäßig, eine Mischung von mehr als zwei verschiedenen Sera zu verwenden.

1) Noguchi, Münch. med. Wochenschr., Bd. 55, 1909, p. 494. — Journ. of Exper. Medicine, Vol. 11, 1909, p. 392. — Die technische Beschreibung der Methode für praktische Verarbeitung siehe: Serum Diagnosis of Syphilis. Philadelphia und London (Lippincott & Co.) 1910.

2) 0,1 ccm eines auf 20 Volumprozent verdünnten frischen Meer-schweinchenserums als einer Komplementeinheit gegen 1 ccm einer 1-proz. Suspension gewaschener Menschenerythrocyten.

3) Man darf nicht ein allzu schwaches Serum verwenden, weil solch ein Serum für Bindungsversuche ungemein unempfindlich sein kann. Ueber Gründe hierfür siehe meine demnächst erscheinenden Veröffentlichungen.

Man erhält so gleichförmigere Resultate, denn es kommen gelegentlich Meerschweinchensera zur Verwendung, welche, obschon frisch und in normaler Weise den Ambozeptor reaktivierend, dennoch in Hinsicht ihrer Fixationsfähigkeit sich ungleich verhalten. Z. B. können sie so hochgradig refraktär sein, daß auch mit einem unzweifelhaft positiv syphilitischen Serum eine zu Trugschlüssen führende negative Reaktion erhalten werden kann, wenn dies nicht beachtet wird.

Die Verwendung von Komplement in trockenem Zustand bietet keine besonderen Vorteile, die Technik der Herstellung ist schwierig, das Verfahren somit nicht für allgemeine Verwendung zu empfehlen. Man vergesse aber nicht, daß dies sehr wohl möglich ist, wie ich dies eingehend experimentell nachgewiesen habe.

Ambozeptor. Man benutzt Serum von Kaninchen¹⁾, die zuvor ausreichend durch mehrfache successive Injektionen gewaschener menschlicher Erythrocyten²⁾ immunisiert wurden. Dieses Serum muß vor dem Gebrauch inaktiviert werden. Im Gebrauche wird von einigen die flüssige Form bevorzugt, von anderen der getrocknete Zustand. Im letzteren Falle imprägniert man zweckmäßig passendes feines Filtrierpapier mit dem Serum und läßt dies antrocknen. Die Titration dieses trockenen Ambozeptorpapiers läßt sich mit derselben Leichtigkeit und Präzision bewerkstelligen, wie die der flüssigen Form. Das Papier hat manche Vorzüge. Es ist gegen Verunreinigungen mit Bakterien geschützt, behält die Aktivität des Ambozeptors viel länger als die flüssige Form und kann ohne merkliche Schwächung seiner Aktivität auf weite Entfernungen und nach allen Klimaten hin versandt werden, auch ist es nicht nötig, es im Kühlschrank aufzubewahren. Jeder weiß, daß die flüssige Form des Präparates eine solche Behandlung, selbst nur einige Tage lang, nicht vertragen würde. Bei der

1) Noguchi, On non-fixation of Complement. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., Vol. 7, 1909, No. 14.

2) Noguchi, The fate of so-called syphilis antibody in the specific precipitation reaction. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., Vol. 7, 1909, No. 16.

Ausführung der Reaktion verwendet man zwei Ambozeptoreinheiten¹⁾.

Bedient man sich der Ambozeptorflüssigkeit, so wählt man am besten die Verdünnung so, daß zwei Einheiten in 0,1 ccm enthalten sind; beim Gebrauch des Papiers empfiehlt es sich, die zwei Einheiten auf einer Fläche zu haben, die einen 5—10 mm langen Abschnitt eines etwa 5 mm breiten Papierstreifens ausmacht.

Blutkörperchen-Suspension. 1 ccm einer 1-proz. Suspension gewaschener menschlicher Blutkörperchen wird für jedes Röhrchen gebraucht, das Blut kann irgendeinem nicht-syphilitischen Individuum entnommen werden. Auch können die nativen Erythrocyten eines jeden zu untersuchenden Blutes benutzt werden²⁾. Für das Arbeiten im großen gewinnt man die Blutkörperchen dadurch, daß man defibriniertes oder mit 2-proz. Natriumcitratlösung zu gleichen Teilen versetztes Blut (oder auch eine schwache Emulsion von Blut in isotonischer Kochsalzlösung) mit einer 0,9-proz. Kochsalzlösung einigemal zentrifugiert und so das Serum auswäscht. Nach Dekantieren der überstehenden Flüssigkeit muß man erst die abgesetzten Erythrocyten wieder, entsprechend dem ursprünglichen Volumen des Blutes, in isotonischer Kochsalzlösung suspendieren, dann aus dieser konzentrierten Suspension endlich eine Suspension in Kochsalzlösung im Verhältnis von 1 Volumprozent herstellen. 1 ccm Blut reicht so zur 1-proz. Suspension für 50 Doppelsatzreaktionen (100 Röhrchen) aus. Es ist anzuraten, immer nur Erythrocyten zu verwenden, die nicht länger als 48 Stunden auf Eis konserviert waren.

1) Titriert mit 0,1 ccm eines auf 20 Volumprozent verdünnten frischen Meerschweinchenserums als Ausdruck einer Komplementeinheit gegen 1 ccm einer 1-proz. Suspension gewaschener menschlicher Erythrocyten.

2) Die Blutentnahmeröhre, in der das Blut geronnen ist, wird nun zerbrochen. Das Gerinnsel wird mit einer Kapillarpipette durchgerührt, bis soviel Blutkörperchen im Serum suspendiert sind, daß ungefähr eine 1-proz. Emulsion entsteht, wenn ein Tropfen des Serums mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wird. Dies ist natürlich nur bei ganz frisch entnommenen, jedenfalls nicht über 24 Stunden alten Proben anwendbar.

Das Serum des Patienten. Dies kann man bei meiner Methode auf zwei verschiedene Weisen verwenden, nämlich entweder nach Inaktivierung durch Erwärmen oder ohne diese Maßregel in frischem Zustande. Aktive sowohl, wie inaktivierte Sera geben bei richtiger Verwendung gleich gute Resultate. Will man jedoch mit aktiven Sera verläßlich arbeiten, so ist es wesentlich, ein nach meiner Methode präpariertes Antigen zu verwenden, d. h. den in Aceton unlöslichen Anteil der Gewebslipide. Antigenpräparate, die nach verschiedenen anderen Methoden gewonnen sind -- wie z. B. wässerige oder gewisse alkoholische Extrakte von Leber oder anderen Organen -- sollten nicht mit aktivem Menschenserum zur Reaktion verwendet werden. Der Grund ist der, daß aktive menschliche Sera zuweilen Komplement fixieren, wenn man sie mit verschiedenen Proteidsubstanzen, Glykogen, gewissen niedrigen Spaltprodukten der Eiweißkörper u. dergl. mischt¹⁾. Ich beobachtete solche Fixierungen mit Tuberkulin, dem Nukleoprotein des Tuberkelbacillus, Wittes Pepton, verschiedenen Albumosen, Glykogen, Alanin, Glycil-Glycin, Glykokoll u. a. m. Auch bakterielle Extrakte, wie z. B. wässerige Extrakte vom Bacillus influenzae, Bac. pertussis, Bac. dysenteriae, vom Pneumococcus und Gonococcus und anderen geben nach meinen Beobachtungen nicht spezifische Komplementfixation²⁾ mit einigen nicht vorgewärmten aktiven, nicht spezifischen menschlichen Sera. Diese Pseudoreaktion tritt nicht ein, wenn man die entsprechenden Sera vorher ca. $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 56° C erwärmt. Andererseits kann man nicht vorgewärmte aktive menschliche Sera verwenden, wenn die Antigenpräparate frei von diesen störenden Proteinen und anderen Kolloiden sind. Dies ist auch

1) Noguchi, On non-specific complement fixation. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., Vol. 7, 1909, p. 55.

2) Diese nicht spezifische Komplementfixation beruht aber nicht auf einer einfachen Summation hemmender Faktoren, weil weder das Antigen noch das Serum selbst in doppelter Menge allein diese Hemmung verursachen können. Man kann diese Erscheinung vom echten Bordet-Gengou-Phänomen ohne Vorkenntnis nicht unterscheiden.

der Grund, weswegen man bei der Wassermannschen Reaktion so lange aktive Sera verwenden kann, als man proteinfreies lipoides Antigen gebraucht. Kurzum, man muß proteinfreie Lipoidsubstanzen als Antigen verwenden, wenn man mit aktiven Sera arbeitet, während irgendeiner der von den verschiedenen Autoren empfohlenen wässerigen oder alkoholischen Organextrakte verwendet werden kann, wenn man die Sera zuvor durch Erwärmen inaktiviert. Diese scheinbare Beschränkung bei der Auswahl und Unterscheidung von Antigenpräparaten sollte die praktische Anwendbarkeit meines Systems nicht beeinflussen, zumal jeder sicherlich auf die Verwendung wässriger oder nicht fraktionierter alkoholischer Extrakte von syphilitischem Fötalgewebe verzichten wird, da diese doch bekanntermaßen an Zusammensetzung unsicher, in Haltbarkeit unbeständig, schwierig darzustellen und vor allem mit der Verwendung aktiver Sera unverträglich sind. Der Gebrauch dieser aktiven Sera mindert zudem die zur Anstellung einer Reaktion nötige Blutmenge auf ein Minimum herab und macht das Inaktivieren überflüssig. Nur in seltenen Fällen muß man dennoch inaktivieren. Gewisse Menschensera neigen nämlich dazu, allmählich nach längerem Stehen antikomplementär zu werden, was man durch Inaktivieren beseitigen muß. Es ist daher eine gute Vorsichtsmaßregel, in solchen Fällen, in denen man das Serum nicht vor Ablauf von 4 oder 5 Tagen verwenden will, sich eine größere Quantität Serum zu sichern, da solches Serum häufig hochgradig antikomplementär wird und inaktiviert werden muß, bevor man es zur Reaktion verwendet. Nach der Inaktivierung aber sollte man die 4- bis 5-fache Menge des Serums verwenden¹⁾.

Beim Ausführen der Reaktion beschickt man jedes Röhrchen mit 0,02 ccm — im Falle von inaktiviertem Serum mit 0,08 ccm. Für gewöhnliche Routinearbeit kann man eine Kapillarpipette brauchen, die etwa 0,02 ccm in einem Tropfen enthält. Für jedes neue Probeserum muß man eine andere Kapillarpipette haben. Zum streng quantitativen Arbeiten bedient man sich regelrechter graduierter

1) Noguchi, A rational and simple system of serodiagnosis of syphilis. Journ. Amer. Med. Ass., Vol. 53, 1909, p. 1532.

Pipetten. Will man Cerebrospinalflüssigkeit untersuchen, so braucht man 0,2 ccm, von Ascitesflüssigkeit 0,1 ccm für jedes Röhrchen.

Antigen. Für aktive Sera verwende man nur den acetonunlöslichen Anteil reiner Gewebslipide. Man kann das Antigen auf zwei Arten ¹⁾ gebrauchen, einmal, indem man feines Filtrierpapier mit konzentrierter ätherischer Lösung dieser Substanz imprägniert und trocknet, zweitens, indem man sich durch Auflösen von 0,3 g Antigen in ca. 3 ccm Aether und Mischen dieser Lösung mit 100 ccm einer 0,9-proz. Salzlösung eine Emulsion herstellt. Beide Präparate — Antigenflüssigkeit und Antigenpapier — müssen titriert werden, um das zur Einzelreaktion nötige Quantum der betreffenden Emulsion resp. die Länge des Papierstreifens zu bestimmen. Hier muß bemerkt werden, daß die Emulsion auch dann, wenn man sie beständig auf Eis hält, sich sehr schlecht konserviert, während Papier-Antigen seine Aktivität verschiedene Monate hindurch behält, ohne zu verderben. Das erste Anzeichen von Verschlechterung des Präparates ist die Entwicklung antikomplementärer Eigenschaften, die sich aber durch kurzes Extrahieren des Antigenpapiers in Aceton zunächst auf kurze Zeit wieder beseitigen lassen. Seit kurzem versuchte ich, das Antigenpapier direkt in Aceton aufzubewahren und ich habe bislang in 6 Monaten noch keine bemerkenswerte Abschwächung konstatiert. Zum Gebrauch nimmt man einfach die Streifen aus dem Aceton heraus und verwendet sie nach dessen Abdunsten in üblicher Weise.

Verwendet man inaktivierte Sera, so ist irgendein Antigenpräparat, das sich zur Verwendung bei der ursprünglichen

1) Dieser acetonunlösliche Anteil der Gewebslipide läßt sich in festem Zustande in geschlossener Glasröhre eine lange Zeit aufbewahren. Hiervon entnimmt man jedesmal die erforderliche Menge und stellt daraus eine Emulsion her. Man kann vorteilhaft auch erst eine konzentrierte alkoholische Stammlösung dieser Gewebslipide herstellen und hiervon kurz vor dem Gebrauche eine beliebige Menge geeigneter Emulsion durch Vermischung des einen Teils Stammlösung mit 4 Teilen Kochsalzlösung bereiten. Die Konzentration der Stammlösung sollte ungefähr im Verhältnis von 0,75 g in 50 ccm Methylalkohol sein. Diese Gebrauchsweise (alkoholische Stammlösung) ist ganz ausgezeichnet und vielleicht dem Papierantigen vorzuziehen.

Wassermannsche Methode eignet, gleichfalls geeignet für mein System. Die Qualität sowohl als die Quantität eines jeden Präparates muß natürlich vor dem Gebrauch bestimmt werden. Ich selbst ziehe auch beim Verarbeiten inaktivierter Sera den acetonunlöslichen Anteil der Gewebslipide als Antigen vor. Es sei erwähnt, daß die Gewebslipide einen viel größeren Antigenwert besitzen als die käuflichen Lecithinpräparate und durch die letzteren nicht ersetzt werden können.

Die Ausführung der Reaktion. Wenn man die Reaktion anstellt, so darf man keinesfalls irgendeinen der notwendigen Kontrollsätze auslassen. Die Kontrollsätze umfassen das positiv syphilitische Serum, das normale Serum und das einfache hämolytische System, in jedem Satz ein Röhrchen mit, das andere ohne Antigen. Die Anordnung ist aus dem Schema ersichtlich.

Schema.

	Probeserum	Positives Kontrollserum	Negatives Kontrollserum	Kontrolle des hämolyt. Systems
Hintere Reihe	Ser. d. Patienten: 0,02 ccm (wenn inaktiviert, 0,08 ccm) Komplement (40-proz. Verdünnung) 0,1 ccm Erythrocyten-Suspension (1-proz.) 1 ccm	Positiv syphilit. Serum 0,02 ccm (wenn inaktiviert, 0,08 ccm) Komplement (40-proz. Verdünnung) 0,1 ccm Erythrocyten-Suspension (1-proz.) 1 ccm	Normales Serum 0,02 ccm (wenn inaktiviert, 0,08 ccm) Komplement (40-proz. Verdünnung) 0,1 ccm Erythrocyten-Suspension (1-proz.) 1 ccm	Kein Serum Komplement (40-proz. Verdünnung) 0,1 ccm Erythrocyten-Suspension 1-proz.) 1 ccm
Vordere Reihe	wie oben mit Antigen	wie oben mit Antigen	wie oben mit Antigen	wie oben mit Antigen

Diese Röhrchen werden 1 Stunde lang bei 37° inkubiert, dann ein jedes Röhrchen mit 2 Einheiten antimenschlichen hämolytischen Ambozeptors beschickt. Während der zweiten, unmittelbar auf die erste folgenden Inkubation müssen die Röhrchen mehrfach gründlich durchgeschüttelt werden.

Die zweite Inkubation der Röhrchen soll 2 Stunden dauern (bei 37° C). Häufiges und gründliches Schütteln der Röhrchen ist nötig, um eine gleichmäßige Einwirkung der hämolytischen Reagentien auf die Erythrocyten zu gewährleisten.

Nach Abbrechen der zweiten Inkubation läßt man die Röhrchen noch einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen und liest die Reaktion dann endgültig ab.

Ich füge meist die Erythrocyten-Suspension von Anfang an zu, aber man kann sie auch nach der ersten Inkubation zusammen mit dem Ambozeptor hinzufügen, wie beim ursprünglichen Wassermannschen oder irgendeinem anderen Verfahren. In diesem Falle fügt man 1 ccm einer 0,9-proz. Kochsalzlösung an Stelle einer 1-proz. Erythrocytensuspension zu den Komponenten der ersten Inkubation (Serum und Komplement mit und ohne Antigen) hinzu; am Ende derselben wird dann 0,1 ccm einer 10-proz. Suspension gewaschener menschlicher Erythrocyten hinzugefügt zusammen mit den zwei Einheiten Ambozeptor. Beide Verfahren geben gleich gute Resultate. Beim Benutzen der nativen Erythrocyten sind diese natürlich schon von der ersten Inkubation her in den Proberröhrchen enthalten, und ein nachheriger Zusatz von menschlichen Erythrocyten aus anderer Quelle ist dann nicht notwendig.

II. Die Wassermannsche Reaktion in der Anwendung auf quantitative Bestimmungen.

Einige wenige Forscher haben versucht, unter Verwendung eines hetero-hämolytischen Systems die syphilitischen Antikörper quantitativ zu bestimmen. Browning und MacKenzie zeigten die Schwierigkeiten, welche sich der Abschätzung der Menge der Antikörper durch Berechnung des Maximums von Komplement, das durch eine gegebene Menge des syphilitischen Serums noch fixiert wird, entgegenstellen. M. Stern lenkte zuerst die Aufmerksamkeit darauf, daß die Fähigkeit des Meerschweinchenserums, als Komplement fixiert zu werden, allmählich verloren geht, wenn man das Serum einige Tage hindurch in der Kälte aufbewahrt. Zeisslers Vorschlag geht ganz im allgemeinen darauf hinaus, die Intensität der Reaktion nach Maßgabe von fünf Gruppen, oder besser gesagt, Graden einzuteilen, je nach dem Betrag von Komplement, der durch gewisse gegebene Beträge vom Serum des Patienten mit wechselnden Mengen von Antigen fixiert wird. Mir scheint es etwas widerspruchsvoll, irgendwelche genaueren quantitativen Arbeiten mit der Wassermannschen Reaktion, ja selbst mit der echten Bordet-Gengou-Reaktion im allgemeinen zu versuchen, so lange man sich eines hetero-hämolytischen Systems bedient, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Der Grad der beobachteten Hämolyse ist, als Indikator betrachtet, der vorhandenen Menge von Komplement durchaus nicht proportional. Reduziert man nämlich die Menge des Komplements allmählich, während man die des Amboceptors steigen läßt, so kann man durch Mischen dieser beiden Bestandteile in passendem Verhältnis innerhalb einer ganz beträchtlichen Breite der Dosierung genau den nämlichen Intensitätsgrad von Hämolyse erzielen. Man kann daher, es sei denn, daß man den Betrag von Amboceptor in dem Gemisch genau kennt, keinesfalls auf die exakte Menge des vorhandenen Komplements nur aus dem Grad der erzielten Hämolyse hin schließen. Diese Schwierigkeit entsteht hauptsächlich durch den Gebrauch eines hetero-hämolytischen Systems; denn das Serum des Patienten kann sehr wohl natürliche Amboceptoren gegen verschiedene fremde Blutarten enthalten, zuweilen sogar in ganz beträchtlichem Ueberschuß, und infolgedessen bleibt der Betrag des tatsächlich wirksamen Amboceptors ganz unsicher, ist zum mindesten sehr variabel.

2) Wendet man das hetero-hämolytische System an, in der Absicht, quantitativ zu arbeiten, so ist es nötig, alles, ursprünglich dem Serum des Patienten eigene (das arteigene) Komplement zu entfernen, damit man beim Anstellen der Reaktion mit einer bekannten Menge eines geeigneten Komplements arbeitet. Man kann nicht hoffen, den Betrag von Komplement, der durch einen gegebenen Betrag von Serum des Patienten fixiert wird, abzuschätzen, ohne daß man die Menge von Komplement, die wirklich zugesetzt wurde, genau kennt. Aus diesem einfachen Grunde kann man auch keine Komplementfixationsmethode, die sich aktiven menschlichen Serums als Quelle des Komplements bedient, für genaue quantitative Arbeit verwenden. Ist es nun möglich dadurch, daß man arteigenes Komplement durch eine bekannte Menge (artfremden) getrennt titrierbaren Komplements ersetzt, die Wassermannsche Reaktion quantitativ zu verwerten? Bei der Beantwortung dieser Frage muß man verschiedene Tatsachen in Erwägung ziehen.

Zunächst treten leider bei der Inaktivierung, die zur Entfernung des arteigenen Komplements ja nötig ist, sekundäre

Veränderungen in dem erwärmten Serum ein. Eine der wichtigsten dieser Veränderungen ist (nach den Angaben von Wechsella n n) die Verschleierung eines positiven Ausfalls der Wassermannschen Reaktion durch diese Alteration des Komplements (Komplementoidverschleierung). Nach diesem Forscher sollte man die Quelle dieser Störungen dadurch beseitigen, daß man vor dem Anstellen der Reaktion die Komplementoide durch Bariumsulfat bindet. Eine weitere Schwierigkeit ergibt sich aus der Tatsache, daß bei dem Inaktivieren, wie es gewöhnlich gemacht wird (Erwärmen auf 56° C auf die Dauer von 30 Minuten), das arteigene Komplement nicht immer entfernt wird, es hat sich dies zum mindesten bei der Verwendung von Hammelerythrocyten nach neueren Untersuchungen von Zeissler ergeben. Nach seinen Mitteilungen gäbe es menschliche Sera, welche selbst noch nach 2-stündigem Erwärmen auf 60° C komplementäre Eigenschaften behalten. Will man demnach alles arteigene Komplement mit Sicherheit eliminieren, so muß man die Sera so lange erhitzen, bis jedes einzelne Serum sich bei der Probe als inaktives verhält, d. h. man muß von jeder einzelnen Probe nach dem Erhitzen den Komplementtiter getrennt bestimmen, was praktisch nicht durchführbar ist. Hätte man dies nun getan, so müßte man diejenigen Sera, welche nach einhalbstündigem Erwärmen auf 56° C noch aktiv sind, abermals eine Zeitlang auf eine höhere Temperatur (60° C z. B.) erwärmen. Einige der Sera müßten demnach länger und auch auf eine höhere Temperatur erwärmt werden, als andere. Hier muß man nun aber fragen: Können wir die unter so veränderlichen Bedingungen gewonnenen Resultate überhaupt noch vergleichen? Nein, durchaus nicht. Denn erstlich sind alle die sogenannten syphilitischen Antikörper bezüglich ihrer Fähigkeit, Hitze zu vertragen, sehr labil. Schon beim Erwärmen auf 45° C nur 20 Minuten lang werden sie bedeutend abgeschwächt, bei 50°, 55° und 60° C Erwärmen während derselben Zeitdauer tritt schon eine ganz erhebliche Einbuße am Gehalt von Antikörpern auf, ja es ließ sich feststellen, daß sich unter den erwähnten Bedingungen die Antikörper im Verhältnis von $\frac{1}{2}$, zu $\frac{1}{4}$, zu $\frac{1}{8}$ verminderten. Sachs, Levaditi und Marie und ich haben auch gezeigt, daß die

Antikörper bei einer Temperatur von ca. 75° C in etwa 20 Minuten zerstört werden.

Angesichts dieser experimentellen Ergebnisse ist es überflüssig, noch weiter auseinanderzusetzen, warum man sich quantitative Arbeiten mit der Wassermannschen Reaktion nicht denken kann, solange man ein hetero-hämolytisches System gebraucht, dem die gerade erörterten Schwierigkeiten anhängen.

Diese eben skizzierten Tatsachen stellen sich also dem Fortschreiten auf dem Wege zur quantitativen Verwertung der Wassermannschen Reaktion hindernd entgegen. Soll letztere für quantitative Arbeiten überhaupt in Betracht kommen, so wird man sich zur Modifikation eines antimenschlichen hämolytischen Systems (eine solche, in welcher alle die fünf Faktoren einzeln titrierbar sind) verstehen müssen, bei der die oben erwähnten Unregelmäßigkeiten ausgeschlossen sind. Während aber die Hauptquellen dieser gerade erwähnten Störungen in der Kontrolle der Faktoren durch eine solche Aenderung in der Versuchsanordnung wohl vermieden werden kann, so trifft dies doch keineswegs für die Veränderlichkeit der Eigenschaften des Meerschweinchenkomplements zu; die dadurch bedingten Störungen müssen natürlich jedem beliebigen System anhängen, und sie sind wohl zu beachten. Wie anderswo festgestellt wurde, kann man die Eigenschaft eines gegebenen Komplements, hämolytische Systeme zu aktivieren, keineswegs zu seiner Fähigkeit, durch Antigen-Antikörperverbindungen verankert zu werden, in direkte Parallele setzen. Es wird gelegentlich beobachtet, daß das eine Komplement, welches sich bezüglich seiner Aktivierungsfähigkeit ganz aktiv verhält, durch die Antigen-Antikörperkombination nicht verankert wird, während eine andere Probe komplementfähigen Serums solche Verankerung zeigt. Nach meinen Erfahrungen ist Meerschweinchen Serum eines der am leichtesten zu verankern den Komplemente, doch muß man auch hier immer mit der Möglichkeit rechnen, eine Probe von Meerschweinchen Serum zu erhalten, dessen Komplement sich bedeutend schwerer verankern läßt. In der Tat, mehr als einmal konnte ich die Verschleierung einer positiven Wassermannschen Reaktion beobachten, die auf diese Tatsache bezogen werden mußte. Ich mache es mir deshalb zur Regel, ein Mischserum von

mehr als 2 Meerschweinchen zu verwenden. Kurzum, diese Fehlerquelle läßt sich leicht vermeiden, wenn man das betreffende Serum auf seine komplementären Eigenschaften hin einer sorgsam und strengen Kontrolle unterzieht.

Wir müssen uns jetzt zur Besprechung einiger Faktoren wenden, welche das quantitative Arbeiten auch bei der Verwendung eines antimenschlichen Systems stören können.

Untersucht man menschliche Sera kurz nach der Gewinnung, so findet man sie meist frei von antikomplementären Eigenschaften, und das solchen frischen Sera im Betrage von zwei Einheiten zugesetzte Meerschweinchenkomplement wird in seiner Wirkung nicht beeinträchtigt. Selbstverständlich ist auch arteigenes Komplement in diesen Serumproben zugegen, doch ist dies zu wenig und zu schwach, so daß man es als störenden Faktor vernachlässigen kann. Numerisch ausgedrückt: Die Menge des aktiven Serums, das man mit der Wassermannschen Reaktion prüfen will, beträgt nur 0,02 ccm, aber in der Gegenwart derjenigen Menge von Amboceptor, welche man für die Reaktion verwendet, würden 0,1 ccm, ja selbst 0,2 ccm solcher Serumproben sich inaktiv gegen menschliche Erythrocyten verhalten. Ist also auch arteigenes Komplement in einer gegebenen Serumprobe von 0,02 ccm zugegen, so kann man das ruhig vernachlässigen, die Resultate bleiben doch ziemlich genau. Anders aber, wenn man ältere Sera untersuchen soll. Diese muß man zuvor ca. 20 Minuten lang auf 56° C erwärmen, um alle antikomplementären Eigenschaften, die sich während des Lagerns des Serum entwickelt hatten, wieder aufzuheben. Nach der Inaktivierung muß man aber 0,08 ccm vom Serum zur Reaktion verwenden, dies wurde eingangs schon erwähnt. Ich weiß nicht, ob durch das Inaktivieren in diesem Falle gelegentlich eine positive Reaktion verdeckt werden kann (wie dies vom Wassermannschen System berichtet), oder nicht. Meine zahlreichen Untersuchungen in dieser Richtung zeigen jedoch, daß die Behandlung des positiven Serums mit Bariumsulfat den Antikörpergehalt herabsetzt.

Ich bin der Ansicht, daß man auch bei Verwendung aktiver menschlicher Sera in meinem System für alle praktischen Zwecke genügend genau arbeitet, wenn man, wie dies auch

bei der Titration aller Antikörper geschieht, die Stärke der Sera durch steigende Verdünnung bestimmt.

III. Praktische Ergebnisse.

Seit der Einführung meines Systems ist dasselbe von verschiedenen Forschern in ca. 10000 Fällen verschiedener Erkrankungen nachgeprüft und mit dem ursprünglichen Wassermannschen System in 1866 Fällen von Syphilis und Metasyphilis verglichen worden. Außerdem wurden 1651 Fälle, die zu derselben Krankheitsgruppe gehören, nach meinem System untersucht und durch die entsprechenden klinischen Daten kontrolliert. Soweit es sich um andere nicht-syphilitische Erkrankungen handelt, ist das System an 4048 Fällen nachgeprüft, einschließlich Fällen von Scharlach, Lepra, malignen Tumoren, Framboesia tropica, Tuberkulose usw., Fälle, bei denen sich positiver Ausfall der Wassermannschen Reaktion aus der Literatur ersehen ließ.

In folgenden Tabellen (p. 366) will ich die von verschiedener Seite gewonnenen Resultate in Fällen von Syphilis und Metasyphilis zusammenstellen.

Aus den Tabellen I und II geht zur Genüge hervor, daß in meinem System die Prozentzahlen des positiven Ausfalls der Reaktion etwas höher sind als bei der ursprünglichen Wassermannschen Methode (die sich alkoholischen Extrakts syphilitischer Fötusleber bedient). Es ist schon davon die Rede gewesen, daß dieser feinere Ausschlag der Reaktion nicht etwa als eine Ueberempfindlichkeit des Systems zu deuten ist. Es ließ sich zeigen, daß das Coupieren gelegentlich vorhandenen natürlichen Ambozeptorüberschusses einer der Hauptgründe dafür ist, daß in meinem System der Reaktionsausschlag feiner ist, als dies bei der Verwendung eines heterolytischen Systems, wo diese Fehlerquelle unvermeidlich ist, der Fall sein kann. Ferner kann man aus den Tabellen ersehen, daß die Verschiedenheiten zwischen den mit beiden Systemen erreichbaren Ergebnissen bei dem einen Arbeiter größer sind, während ein anderer mit beiden Methoden mehr gleichförmige Resultate erzielt. Zum Teil muß man diesen Unterschied durch die heterogene Beschaffenheit der Fälle, welche der Statistik zugrunde liegen, zum Teil aber auch durch

Tabelle I.

	Prim. Syphilis		Sek. Syphilis		Tert. Syphilis		Latente Syphilis		Kongen. Syphilis		Cerebrospin. Syph.	
	Zahl der Fälle	W. %	N. %	Zahl der Fälle	W. %	N. %	Zahl der Fälle	W. %	N. %	Zahl der Fälle	W. %	N. %
Noguchi	23	73,9	86,9	79	87,3	96,2	65	80	87,6	59	61	75,5
Noguchi	70	92,8	92,8	91	96	96,2	177	80	89,9	270	61	77,4
Craig	51	58,8	58,8	50	88	82,4	30	54	77,3	29	68,9	68,9
Kaliski	11	100	100	88	100	100	60	74	74	7	75	7
Kaplan	138	90	97	281	86	98	191	81	84	20	100	100
Fox	7	100	100	37	97	100	32	71	80	1	100	100
Orleman-Robinson	29	84,6	84,6	48	93,7	93,7	60	80	80	10	100	100
Corson-White	14	100	100	71	98	99	47	80	80	39	100	100
Potter (Alfred)	7	86	86	24	98,6	98,6	5	78	66	1	100	100
Groat	9	100	100	15	89	93	9	60	11	2	75	75
Berghausen								88	66	4	100	100
Summa	359	89,9	90,5	1039	91	94,9	722	71,6	79,9	625	54,5	62
Verglichen mit W.scher Methode	193			593			395			220		
Nicht verglichen	166			446			327			405		

Tabelle II.

	Paralyse						Tabes					
	Blutserum			Cerebrospinalflüssigkeit			Blutserum			Blutserum		
	Zahl der Fälle	W. %	N. %	Zahl der Fälle	W. %	N. %	Zahl der Fälle	W. %	N. %	Zahl der Fälle	W. %	N. %
Noguchi	25	86	86	44	86	86	125	44	68	8	44	72
Rosanoft und Wiseman	56	80	80	5	100	86	205	60	65	8	60	65
Corson-White	11	65	72			100	49	70	75	49	70	75
Kaplan	61	66	66				10	40	60	10	40	60
Kaliski	3	100	100				6	100	66	6	100	66
Schradeck	4	100	100				3	100	100	3	100	100
Groat	2											
Summa	162	70	73,4	49	100	93	406	62,8	72	406	62,8	72
Verglichen mit W.scher Methode	75			5			275			275		
Nicht verglichen	87			44			131			131		

individuelle Verschiedenheiten in der Methode der Arbeiter selbst erklären. Man muß sich dessen bewußt sein, daß die Verschiedenheiten in den Resultaten um so größer werden und zugunsten meines Systems (mit antimenschlichem Ambozeptor) ins Gewicht fallen, einen je reichlicheren Gehalt an natürlichem Anti-Hammel-Ambozeptor im Einzelfalle das zu untersuchende Serum aufweist.

Braucht man somit bei sorgsamer Ausführung der Reaktion von der Hand geübter Arbeiter keinerlei theoretischen Zweifel an der Verlässlichkeit meiner Methode zu hegen, so sollte man doch an einer größeren Anzahl nicht syphilitischer Fälle das System nachprüfen, um zu wissen, ob es dieselbe pathognomonische Bedeutung hat wie die Wassermannsche Methode.

Dies ist in 4048 Fällen von nicht syphilitischen Krankheiten geschehen. Die Resultate seien im folgenden kurz angeführt:

Noguchi	1642
Kaliski ¹⁾	750
Jeffries und Pease ²⁾	300
Schwartz (B) ³⁾	250
Robinson (Orleman) ⁴⁾	250
Lederer ⁵⁾	150
Fox ⁶⁾	113
Groat ⁷⁾	51
Corson-White ⁸⁾	183
Craig ⁹⁾	214
Potter (Alfred) ¹⁰⁾	45
Schradieck ¹¹⁾	100
Summa	4048

- 1) Pathologisches Laboratorium des Mount Sinai Hospital.
- 2) Pathologisches Laboratorium der New-Yorker Policlinic Medical School und des Post-Graduate Medical College.
- 3) Pathologisches Laboratorium des Bellevue Hospital und des Gouvernier Hospital.
- 4) Dermatologische Abteilung der New-Yorker Policlinic und der North Western Clinic.
- 5) Pathologisches Laboratorium des jüdischen Hospitals zu Brooklyn.
- 6) Skin and Cancer Hospital und Vanderbilt-Klinik zu New-York.
- 7) Medizinische Abteilung der Universität Syracuse.
- 8) Neuropathologische Abteilung der Universität Pennsylvania.
- 9) U. S. Army Medical College, Washington.
- 10) Dermatologische Abteilung des Long Island Medical College.
- 11) Pathologisches Laboratorium des King's County Hospital, Brooklyn.

Genaue Erörterungen der obenerwähnten Fälle wird man in den Einzelheiten ansehen können, es genügt, hier nur zu erwähnen, daß die meisten Erkrankungen in jedem Gebiet der Medizin von diesen Arbeitern studiert worden sind. Einige von ihnen untersuchten Serumproben, die von Patienten auf den Krankenhausabteilungen aufs Geratewohl von Bett zu Bett ohne jede Auswahl mit Rücksicht auf Syphilis entnommen waren. Andere wieder untersuchten das Serum von Patienten, welche viele Jahre lang unter Beobachtung gestanden hatten, und bei denen Syphilis völlig ausgeschlossen war. Noch andere prüften Fälle verschiedener Spezialgruppen, z. B. aus dem Gebiete der Dermatologie, Neurologie, Psychiatrie, Otologie, Ophthalmologie, Gynäkologie usw. In folgenden Fällen wurden positive Reaktionen beobachtet: Ich selbst hatte positive Reaktionen in 10 Fällen von Lepra 7mal; Fox, der 60 Fälle derselben Krankheit untersuchte, notierte in 38 Fällen der tuberösen und gemischten Form der Lepra 28mal, in 22 Fällen der maculoanästhetischen Form 3mal positiven Ausfall der Reaktion. Von meinen 55 Fällen maligner Tumoren (hauptsächlich Carcinom) war ein Fall von Lebercarcinom und ein Fall von Endotheliom der Lunge positiv. Fox notierte einen positiven Ausfall der Reaktion in einem Fall von Ekzema, doch konnte er ihn nicht nachprüfen. Ich selbst habe 32 Fälle von Ekzem untersucht, und ständig mit negativem Resultat. 52 Fälle von Tuberkulose, die ich untersuchte, zeigten alle einen negativen Ausfall der Reaktion. Gonorrhöe und weicher Schanker waren immer negativ, und in den Fällen, wo eine positive Reaktion auftrat, handelte es sich um Fälle von chancre mixte. Scharlachfieberfälle waren nie einwandsfrei positiv, von 63 Fällen, die ich notierte, finde ich nur 2, die eine leichte Hemmung der Hämolyse zeigten; in einem Falle bekam ich eine starke positive Reaktion, aber gerade dieser Fall war eine kongenitale Syphilis, und zwei Aerzte, die den Fall behandelten, infizierten sich später, so daß der Beweis der kongenitalen Lues auch hierdurch erbracht ist.

Die oben angeführten Arbeiter verwendeten aktive menschliche Sera und den acetonunlöslichen Anteil der Gewebslipide als Antigen (hergestellt nach meiner Methode).

Im Gegensatz zu den eben angeführten Ergebnissen berichtete Swift über 35 positive Reaktionen (!) in 201 Fällen nicht syphilitischer Erkrankungen, die mit meinem System untersucht wurden. Von meiner gewöhnlichen Technik jedoch wich er darin ab, daß er einen nach den Vorschriften von Michaelis und Lesser bereiteten Extrakt syphilitischer Fötusleber verwendete. Da seine Befunde von keinem anderen Forscher bestätigt worden sind, und da Swift noch wenig Erfahrung in der Serologie besaß, so müssen die von ihm gefundenen Anomalien seiner Technik und nicht der Methode selbst zugeschrieben werden. Hierfür spricht auch, daß Swift diese Befunde seitdem nicht hat wieder erhalten können. Ich selbst habe mit ihm 51 Fälle nichtsyphilitischer Erkrankungen mit aktivem Serum untersucht, ohne auch nur eine einzige positive Reaktion zu erhalten.

Der Mangel an Uebereinstimmung der Resultate muß zweifellos zum Teil auf die Verschiedenheit der Antigenpräparate bezogen werden. Kürzlich konnte ich nachweisen, daß ein wässriger und alkoholischer Extrakt eines macerierten Organes verschiedene Substanzen kolloidaler Natur enthält, die in Verbindung mit aktivem Menschenserum Komplement verankern, und diese Eigenschaft verschwindet nach dem Inaktivieren. Ich will hier nochmals nachdrücklichst betonen, daß alle diese Störungen vermieden werden, wenn man an Stelle der wässrigen oder alkoholischen Extrakte ein protein- und glykogenfreies Antigen verwendet, wie es der acetonunlösliche Anteil der Gewebslipide darstellt¹⁾.

Zusammen mit mir untersuchten Rosanoff und Wieseman²⁾ die Sera von 334 Fällen nicht-metasyphilitischer Psychosen und die Cerebrospinalflüssigkeit von 234 Fällen aus derselben Kategorie.

In 45 Sera erhielten wir positives Resultat, ebenso in 12 Fällen der Cerebrospinalflüssigkeit. In 15 Fällen ließ sich Syphilis feststellen, in den übrigen ließ sie sich weder nach-

1) Diskussion mit Demonstration am 12. Januar 1910 vor der Pathologischen Gesellschaft in Philadelphia.

2) Rosenoff und Wieseman, Syphilis and Insanity. Amer. Journ. of Insanity, Vol. 66, 1901, p. 419.

weisen noch unbedingt ausschließen. Corson-White¹⁾, der sowohl das Wassermannsche als auch mein System angewendet hat, fand 15 positive Reaktionen in 111 neurologischen Fällen; 24 Fälle davon waren Epilepsie, und in 8 von diesen wurden positive Reaktionen bei beiden Methoden beobachtet. Hiermit in Zusammenhang mag noch erwähnt sein, daß Rosanoff und Wiseman beim Gebrauch meines Systems allein etwas niedrige Prozentzahlen positiven Ausfalls der Reaktion bei Epilepsie erhielten (12 Fälle in 69 Fällen), desgleichen bei Dementia praecox (15 Fälle in 131 Fällen). Diese Resultate stimmen gut überein mit den Beobachtungen früherer Autoren, die sich des Wassermannschen Systems bedienten (Raviart, Breton und Petit, Levaditi und Rabinovitch).

Das System mit antimenschlichem Ambozeptor ist auch in 130 ophthalmologischen Fällen unter der klinischen Assistenz von Dr. Martin Cohen²⁾ nachgeprüft worden, der an anderem Orte hierüber vom klinischen Standpunkt berichtet hat. In der Otologie wurde es von Dr. Fowler an 127 Fällen unter zufriedenstellender Uebereinstimmung mit den klinischen Befunden nachgeprüft. Mit Dr. Atwood habe ich 205 Fälle von Idiotie und 104 Fälle von Imbecillität mit meinem System untersucht. Wir haben davon 7 Proz. positive Reaktionen in der ersten und 8 Proz. in der zweiten Gruppe erhalten³⁾. Zur Verfolgung der syphilitischen Fälle während der Behandlung hat Dr. Pederson mein System herangezogen. Sein Bericht über eine große Anzahl der Fälle, die seit 1908 von ihm gemeinsam mit mir studiert worden sind, ist klinisch sehr lehrreich⁴⁾.

Außerdem wurde diese Methode von verschiedenen Forschern in ungefähr 1800 Fällen unsicherer Natur für die Diagnose verwendet, und zwar mit befriedigendem Ergebnisse.

1) Corson-White, Vortrag vor der Pathologischen Gesellschaft in Philadelphia am 12. Januar 1910.

2) Cohen, The value of the serodiagnosis of syphilis in ophthalmology. A preliminary report. Arch. of Ophthalm., Vol. 39, 1910, p. 93.

3) Genauer Bericht hierüber wird von Dr. Atwood veröffentlicht.

4) Pedersen, Serodiagnosis of Syphilis. New York med. Journ., Vol. 91, 1910, p. 1113.

Zusammenfassung.

1) In obigem sind einige vom Autor in der ersten Hälfte des Jahres 1909 angegebene Verbesserungen der Syphilisdiagnose (Wassermannsche Reaktion) beschrieben. Es hat sich kein besonderer Vorteil bei der Verwendung getrockneten Komplements herausgestellt, und es ist anzuraten, das Meerschweinchenserum nur in flüssiger Form zu verwenden. Ambozeptor und Antigen kann man je nach Wahl in flüssigem oder getrocknetem Zustande verwenden, im Punkt der Genauigkeit sind beide gleichwertig, doch ist zu beachten, daß das flüssige Präparat an Haltbarkeit dem Trockenpräparat nachsteht. Das Serum des Patienten kann sowohl im aktiven wie im inaktiven Zustand zur Verwendung kommen. Im ersten Falle sollte man nur den acetonunlöslichen Anteil der Gewebslipoide verwenden, verwendet man aber inaktives Serum, so kann man irgendeinen wässerigen oder alkoholischen Antigenextrakt von syphilitischer Fötusleber gebrauchen, dessen Verlässlichkeit ausprobiert worden ist. Es scheint äußerst wichtig zu sein, daß man das Antigenpräparat dementsprechend verschieden wählt, je nachdem man mit aktivem oder inaktiviertem Serum arbeitet, falls man wirklich verlässliche Resultate erhalten will. Verschiedene Proteinsubstanzen (Nukleoprotein, Pepton, Albumosen usw.), ferner Eiweißspaltprodukte, Glykogen und wahrscheinlich viele andere Substanzen, speziell solche von kolloidaler Natur, sind imstande, Komplement aus Meerschweinchenserum zu fixieren, wenn man sie mit gewissen aktiven Menschensera zusammenbringt. Dies kann also eine wirkliche spezifische Komplementbindung vortäuschen. Aus diesem Grunde sollte man diese Extrakte nicht mit aktiven menschlichen Sera als Antigen verwenden.

2) Für quantitatives Arbeiten kann man sich weder der Wassermannschen noch irgendeiner anderen auf der Bordet-Gengou-Methode der Komplementverankerung fußenden Reaktion bedienen, vorausgesetzt, daß man sich eines hämolytischen Systems bedient, in welchem die zu hämolyisierenden Erythrocyten einer artfremden Species entstammen und demnach der hämolytischen Wirkung gerade desselben Serums, das auf den Antikörper hin untersucht werden soll, unterliegen. Denn in diesem Falle werden ganz unbekannte

Mengen von Ambozeptor eingeführt und die Entfernung nativen Komplements durch Inaktivieren hat wiederum andere Verschiebungen in der Zusammensetzung eines so behandelten Serums zur Folge, andererseits wird man quantitativ exakter arbeiten können, wenn die als Indikator der Hämolyse verwendeten Erythrocyten derselben Species entstammen, wie das den Antikörper enthaltende Serum, wobei man natürlich das Komplement einer andern Species verwenden muß (am vorteilhaftesten, wie die Erfahrung zeigt, das Meerschweinchenserum, s. oben). Auf diese Art kann man wirklich alle bei der Komplementverankerung in Betracht kommenden Faktoren quantitativ kontrollieren. Es ist selbstverständlich, daß alle die Methoden, in welchen die natürlichen Hämolysine (Komplement oder Ambozeptor oder beides) des Patienten benützt sind, für die quantitative Arbeit wenig geeignet sind.

3) In praxi zeigen die Resultate bei der Anwendung der von mir empfohlenen Anordnung auf 3517 Fälle von Syphilis und Metasyphilis und auf 4048 Fälle von nicht syphilitischen Erkrankungen, daß die Methode ebensoviel pathognomonische Bedeutung hat, wie die ursprünglich von Wassermann angegebene, ja daß sie oft dann noch ein wahrheitsgemäßes Ergebnis liefert, wenn die letztere entweder wegen Ambozeptorüberschuß im Serum des Patienten nicht mehr positiv ausschlägt, oder wenn sie durch die Komplementverschleierung im Sinne Weichselmanns verdeckt bleibt. Die Methode ist schon insgesamt auf ca. 10000 Fälle geprüft (3517 Fälle von Syphilis und Metasyphilis, 4048 Fälle von nichtsyphilitischen Erkrankungen, 878 Fälle von speziellen Gruppen der Erkrankungen und ungefähr 1800 Fälle für Diagnose).

Den oben mitgeteilten Erwägungen folgend, empfehle ich ferner für Routine-Arbeit die Verwendung aktiven Serums, vorausgesetzt, daß man sich des acetonunlöslichen Anteils der Gewebslipide als Antigen bedient, es sei denn, daß spezielle Gründe zum Inaktivieren der zu untersuchenden Sera vorliegen, wie sie z. B. dann vorliegen, wenn die antikomplementären Eigenschaften einer zu alten Probe beseitigt werden müssen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt.]

Auswertung von Anti-Eiweiß-Seris¹⁾.

Von

Stabsarzt Dr. **Haendel**, und Dr. **Karl Steffenhagen**,
kommandiert zum Kaiserlichen wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im
Gesundheitsamt. Kaiserlichen Gesundheitsamte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Juni 1910.)

Gelegentlich vergleichender Untersuchungen über den Nachweis intravenös zugeführten, artfremden Eiweißes in der Blutbahn des Kaninchens mittelst der Präzipitation, der Komplementbindung und der Anaphylaxiereaktion²⁾ hatten wir die Beobachtung gemacht, daß drei hochwertige, empfindliche, präzipitierende Pferdeantisera, welche nach der Uhlenhuth'schen Methode ausgewertet einen Titer von 1:20 000 besaßen, gegenüber ihrer präzipitierenden Wirkung eine so auffallend geringe komplementbindende Kraft entfalteten, daß in dem speziellen Falle der Nachweis des in Frage kommenden Eiweißes mittelst der Komplementablenkung nicht durchgeführt werden konnte, während dasselbe mit der Präzipitation durch das gleiche Antiserum bis zum 12. Tage festzustellen war.

Nun ist es ja bekannt, und speziell auch von Sachs ist in seinen ausgezeichneten Monographien darauf hingewiesen worden, daß Komplementbindung und Präzipitation zwei Methoden darstellen, welche auf verschiedenen Grundlagen beruhen.

Die erwähnte Erscheinung, daß die bei Anwendung der beiden Methoden erhaltenen Ergebnisse untereinander differierten, hätte sonach an sich nichts besonders Auffallendes, wenn nicht nach den in der Literatur hierüber vorliegenden Mitteilungen im allgemeinen die Auffassung vorherrschte, daß die Komplementbindungsmethode gegenüber der Präzipitation

1) Vortrag, gehalten in der „Freien Vereinigung für Mikrobiologie“ in Berlin am 19. Mai 1910.

2) Hintze, Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Bd. 6, 1910.

die weitgehenderen Ausschläge gäbe, daß ihr Bereich der größere sei und entsprechend demnach auch da, wo eine Präzipitinreaktion stattfindet, Komplementbindung eintritt.

Zur Feststellung, ob es sich bei der erwähnten Beobachtung nur um eine zufällige und vereinzelte Erscheinung gehandelt hat, oder ob derartige Fälle auch sonst vorkommen können, haben wir eine Anzahl verschiedener Antieißsera — wie sie im Kaiserlichen Gesundheitsamte zu Abgabezwecken vorrätig gehalten werden — systematisch ausgewertet hinsichtlich ihrer komplementbindenden, ihrer präzipitierenden und einzelne auch hinsichtlich ihrer anaphylaktisierenden Eigenschaften, sowie bei einigen auch ihre Präzipitationsstärke nach Nuttall bestimmt. Im ganzen haben wir 17 Sera zu diesen Untersuchungen herangezogen. Die Mehrzahl hatte nach der Uhlenhuthschen Methode einen Titer von 1:10 000 bzw. 1:20 000, je eines einen Titer von 1:40 000 bzw. 1:50 000 und nur eines den geringen Titer 1:1000. Die Antisera waren von Kaninchen durch zweimalige intravenöse und ein- bis zweimalige intraperitoneale Injektion von Serum gewonnen, nach der Entnahme durch Berkefeld-Filter filtriert und 3 bis 8 Wochen in zugeschmolzenen Glasröhrchen steril aufbewahrt.

Was die von uns für die Komplementbindung angewandte Technik anbelangt, so benützten wir gegen Hammelblut gerichtetes inaktiviertes Kaninchenserum, Hammelblut in 5-proz. Aufschwemmung und frisches Meerschweinchenserum als Komplement. Komplement und Ambozeptor wurden für jeden Versuch frisch eingestellt. Diese schon ursprünglich von Neisser und Sachs sowie auch von Rickmann und Bauer geforderte Maßnahme ist durchaus notwendig, da die Komplementwirkung verschiedener, frischer Meerschweinchen-sera doch recht beträchtliche Schwankungen zeigt, so sahen wir z. B., daß ein Meerschweinchenserum in der Dosis von 0,1 ccm erst mit 0,005 Ambozeptor 1 ccm einer 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung völlig komplett löste, während ein anderes Meerschweinchenserum bereits mit 0,001 ccm desselben Ambozeptors komplette Lysis bewirkte. Es empfiehlt sich nun nicht, wenn ein schwach wirksames Komplement einer größeren Ambozeptordosis zur kompletten

Lysis bedarf, diese schematisch zu verdoppeln, da dann die Ambozeptormengen trotz des schwach wirksamen Komplementes zu sehr gesteigert und die Blutkörperchen zu stark sensibilisiert werden. Man erhält klarere Resultate, wenn in einem solchen Falle entweder die kleinste gefundene Ambozeptormenge verwendet oder sie höchstens um einen Bruchteil vermehrt wird.

Von einer Auswertung des Komplementes der jeweils festgestellten Ambozeptormenge gegenüber und der Anwendung des doppelten Multiplums der gefundenen Komplementdosis haben wir in der Regel abgesehen, da wir möglichst ohne Komplementüberschuß arbeiten wollten, um auf diese Weise die deutlichsten Ausschläge zu erhalten. Man wird vielleicht vorteilhaft auch bei der praktischen Anwendung der Methode von der besonderen Einstellung des Komplementes überhaupt absehen können, sofern man die gegen 0,1 ccm Komplement gefundene Ambozeptordosis nicht zu sehr steigert. Im allgemeinen wird man schließlich doch fast regelmäßig zu einer Benutzung von 0,1 ccm Komplement kommen.

Verschiedene Reihen haben wir sowohl ohne Komplement- wie auch ohne Ambozeptorüberschuß angesetzt, ohne dadurch aber zu wesentlich anderen Ergebnissen wie bei unserer gewöhnlichen Versuchsanordnung zu gelangen.

Im übrigen gingen wir zunächst in der Weise vor, daß wir nach der von Neisser und Sachs, Rickmann und Bauer gegebenen Anweisung abgestufte Mengen des Antiserums meist von 0,1 ccm, bei manchen Seris auch von 0,2 ccm an gegen 0,0001 ccm Antigen auswerteten, um die Antiserumdosis zu finden, welche mit dieser Antigenmenge komplette Hemmung der Hämolyse bewirkte. Wie wir gleich hier vorausschickend bemerken wollen, hat keines der von uns untersuchten Antisera in irgendeiner Dosis mit dieser Antigenmenge eine komplette Hemmung der Hämolyse bewirkt, sondern die erhaltenen optimalen Ausschläge schwankten in diesen Reihen gegen 0,0001 Antigen zwischen starker und schwacher Lysis. Die Antisera entfalteten die beste Wirkung meist in den Dosen zwischen 0,04 und 0,02, mitunter waren aber auch größere Antiserummengen erforderlich.

Im allgemeinen wurden bei dieser Prüfung die deutlicheren Ausschlüsse von den auch hinsichtlich ihrer präzipitierenden Fähigkeit wirksameren Seris erhalten; es war aber nicht bei allen Seris ein derartiges Parallelgehen bei beiden Reaktionen zu erkennen.

Die für die erwähnte Antigenmenge (0,0001 ccm) gefundene, optimale Antiserumdosis wurde nun einfach oder nach dem Vorgehen von Rickmann verdoppelt gegen fallende Antigenkonzentrationen ausgewertet. Bei verschiedenen Seris erhielten wir dabei regelmäßige Reihen, und zwar entsprechend dem Fallen der Antigenmengen abnehmende Komplementbindung. Bei einzelnen Seris sahen wir aber auch gerade umgekehrt gegenüber den stärkeren Antigenkonzentrationen nur schwache oder gar keine antihämolytische Wirkung, sondern die Komplementbindung nur auf ganz bestimmte, der gewählten Antiserumdosis offenbar optimal entsprechende kleinere Antigenmengen beschränkt.

Daß der Ausfall des Komplementbindungsphänomens in außerordentlicher Weise von dem jeweiligen Verhältnis von Antigen und Antiserum abhängt, ist bekannt.

Bei unseren weiteren Versuchen haben wir daher, diesem Umstand Rechnung tragend, die Sera nicht mehr nach dem Vorgange Rickmanns gegen 0,0001 ccm Antigen, sondern von vornherein in mehreren Parallelreihen gleichzeitig gegen verschiedene Antigenmengen, wie z. B. 0,01, 0,001, 0,0002, 0,0001 ccm ausgewertet. Es zeigte sich dabei, daß meist bei demselben Antiserum ganz andere Mengen jeweils mit den verschiedenen Antigenkonzentrationen die stärkste Komplementbindung bewirkten. Häufig aber nicht immer war das Verhältnis dabei so, daß 0,01 ccm Antigen gegenüber eine größere Antiserumdosis erforderlich war als den geringeren Antigenkonzentrationen 0,001, 0,002 und 0,0001 ccm gegenüber, aber auch bei diesen waren die wirksamen Antiserumdosen oft verschieden. Bei einzelnen Seris waren die Differenzen beträchtlich, bei anderen zwar geringer, aber doch deutlich in Erscheinung tretend.

Auch bei dieser Versuchsanordnung haben die untersuchten Sera keine starke komplementbindende Kraft entfaltet. Nur ein Teil der Sera bewirkte mit 0,001 ccm Antigen kom-

plette Hemmung, bei den anderen war selbst mit dieser Antigendosis keine völlige, sondern nur eine mehr oder minder stark ausgesprochene Hemmung der Hämolyse eingetreten. Natürlich waren, und zwar fast bei allen Seris, auch mit geringeren Antigenmengen wie 0,001 ccm noch spezifische Ausschläge zu verzeichnen, die aber nie so stark waren, daß die Hämolyse vollständig gehindert gewesen wäre.

Zunächst mag es vielleicht auffällig erscheinen, daß eine so große Anzahl von hochwertig präzipitierenden Seris nur eine verhältnismäßig geringe komplementfixierende Wirkung entfaltete. Man kann aber auch bei anderen Immunseris ähnliche Beobachtungen machen, wenn sie vielleicht auch nicht in einen direkten Vergleich mit den vorgetragenen zu setzen sind. Es ist uns jedenfalls bei Durchsicht einer größeren Anzahl von Protokollen von Komplementbindungsversuchen, welche der eine von uns früher mit Cholera und Choleraseris angestellt hatte, aufgefallen, daß auch hier bei Verwendung hochwertiger bakterizider Seris mit einem Titer von 1:25 000 und 1:30 000 diesem gegenüber die mit der Komplementbindung erhaltenen Werte beträchtlich, oft um das 10-fache oder noch mehr, zurückbleiben. Worauf es beruhen könnte, daß die präzipitierenden und komplementbindenden Wirkungen der untersuchten Sera so differieren, vermögen wir nicht zu sagen. Wir hatten daran gedacht, daß die Filtration der Sera durch Berkefeld-Filter vielleicht die Ursache sein könnte. Nachdem aber Andrejew im Kaiserlichen Gesundheitsamt kürzlich gezeigt hat, daß bei der Filtration die Präzipitine stärker absorbiert werden wie die komplementbindenden Antikörper, so kann der Grund für das differente Verhalten der Sera doch nicht in der Filtration gesucht werden.

Die erhaltenen Ergebnisse scheinen uns nun nach verschiedener Richtung hin Schlüsse zuzulassen. Einmal geht daraus hervor, daß es sich bei der ursprünglichen, eingangs erwähnten Beobachtung, wonach empfindliche, präzipitierende Sera nur geringe komplementbindende Wirkung entfalten können, nicht etwa nur um eine vereinzelte oder seltene Erscheinung gehandelt hat, sondern daß solche Sera anscheinend sogar verhältnismäßig häufig vorkommen, häufiger jedenfalls, als man wohl bisher anzunehmen geneigt war.

Es soll nun andererseits aber nicht etwa behauptet werden, daß nicht auch Antieiweißsera vorkommen, welche im Vergleich zu ihrer präzipitierenden Wirkung eine stärkere komplementbindende Kraft entfalten können. Man darf aber diese Eigenschaft nicht ohne weiteres bei jedem präzipitierenden Serum voraussetzen. Es können daher zu Untersuchungen mittels der Komplementbindung, namentlich für praktische, besonders für forensische Zwecke, entsprechend der auch von Sachs bereits aufgestellten Forderung, nur solche Sera Verwendung finden, welche speziell auf ihre komplementbindenden Eigenschaften ausgewertet sind und sich bei dieser Prüfung auch entsprechend wirksam gezeigt haben. Eine weitere Frage ist die, ob es sich nicht empfiehlt, bei diesen Komplementbindungsversuchen der Abhängigkeit des Komplementbindungsphänomens von dem jeweiligen Verhältnis von Antigen und Antiserum doch mehr Berücksichtigung zu schenken. Wir möchten glauben, daß es vorteilhafter wäre, in einem praktischen Falle die zu untersuchende Eiweißlösung nicht mit einer Antiserumdosis zu prüfen, welche gegen eine in gewisser Hinsicht immerhin willkürlich gewählte Antigenmenge eingestellt ist, sondern unter Benutzung der von Uhlenhuth empfohlenen Salpetersäurekochprobe den Eiweißgehalt der fraglichen Lösung möglichst zu bestimmen und einzustellen, um die Prüfung mittels der Komplementbindung auch mit einer ihrem Eiweißgehalt entsprechenden Antiserumdosis vornehmen zu können. Die praktischen Untersuchungen mögen vielleicht bereits in der Weise durchgeführt werden, in der Literatur liegt aber bisher unseres Wissens eine nähere Angabe in dieser Hinsicht nicht vor.

Was die Auswertung der Sera nach der Methode von Nuttall anbelangt, so ergab sich, daß die für die einzelnen Sera festgestellte Präzipitationsstärke, die Größe des bei bestimmten Antigen-Antiserumverbindungen entstehenden Niederschlages nicht, jedenfalls nicht in gesetzmäßiger Weise in Beziehungen zu bringen ist mit der komplementbindenden Wirkung und der gröberen oder feineren Empfindlichkeit der Sera bei der Präzipitation.

Zum Vergleich haben wir schließlich dann noch einzelne Sera auch hinsichtlich ihrer anaphylaktisierenden Wirkung

nach zweierlei Richtungen hin an Meerschweinchen ausgewertet. Einmal, indem wir nach dem Vorgange von Doerr und Russ eine Doppelserie von Meerschweinchen mit gleichen Antiserummengen von je 0,1 ccm Antiserum intraperitoneal vorbehandelten und nach 24 Stunden mit fallenden Antigenmengen prüften, und zweitens ebenfalls Doppelreihen von Meerschweinchen nach Doerr und Moldovan mit fallenden Dosen von Immunserum (von 0,3 ccm an) vorbehandelten und nach 24 Stunden gleichmäßig mit 0,2 ccm Antigen nachspritzten. Zu den letzten Versuchsreihen haben wir in vitro Kontrollserien mit denselben Immunserum- und Antigenmengen angesetzt zur Bestimmung der noch sichtbar im Reagenzglase eintretenden Präzipitinreaktion. Wir konnten nun in der Tat, wie Doerr und Moldovan, bei dieser Versuchsanordnung eine zwar weitgehende, aber keine völlige Uebereinstimmung hinsichtlich der im Reagenzglase und im Tierkörper wirksamen Immunserumdosen feststellen. Auch erhielten wir keine so glatten Versuchsreihen wie diese Autoren. Regelmäßigen Tod der Tiere erzielten wir nur mit der Antiserumdosis 0,3. Ferner traten mitunter bei den mit schwächeren Antiserumdosen vorbehandelten Tieren bei der Prüfung schwerere Symptome auf als bei den mit größeren Antiserummengen sensibilisierten Meerschweinchen. Die Individualität der einzelnen Tiere macht sich auch bei diesen Versuchen bemerkbar. Die niederste anaphylaktisierende Dosis lag bei allen untersuchten Seris zwischen 0,03 und 0,01. Sie fiel, wie erwähnt, nicht immer mit der kleinsten im Reagenzglase noch wirksamen Immunserummenge zusammen; so gab z. B. das empfindlichste präzipitierende Serum (Titer 1:50 000) mit 0,003 im Reagenzglase noch ein nach Nuttall meßbares Präzipitat, während im Tierkörper nur 0,01 ccm noch anaphylaxieauslösend wirkte; ein anderes Serum dagegen machte mit 0,03 die Meerschweinchen noch anaphylaktisch, rief aber im Reagenzglase keine Trübung mehr hervor.

Bei der anderen Art der Auswertung, Vorbehandlung mit 0,1 ccm Antiserum und Nachbehandlung mit fallenden Mengen Antigens traten die Differenzen bezüglich der anaphylaktisierenden Kraft bei den einzelnen Seris in schärferer Weise hervor. Im allgemeinen erwies sich diese Kraft aber bei den

einzelnen Seris durchschnittlich um das 100-fache geringer als ihre präzipitierende Wirkung, d. h. ein Serum z. B., welches in der Dosis von 0,1 ccm noch mit 0,0001 ccm Antigen im Reagenzglas einen Niederschlag erzeugte, vermochte Meerschweinchen nur gegen 0,01 ccm Antigen zu sensibilisieren. Ein Serum blieb in seiner sensibilisierenden Wirkung gegenüber der präzipitierenden sogar um das 600-fache zurück. Auf Grund der bei diesen Auswertungsreihen beobachteten Differenzen oder Uebereinstimmungen möchten wir jedoch bezüglich Identität oder Verschiedenheit der Präzipitine, der anaphylaktischen und der komplementbindenden Antikörper keine besonderen Schlüsse ziehen, zumal wir erst 6 unserer untersuchten Sera bezüglich ihrer anaphylaktisierenden Wirkung genauer auswerten konnten.

Wenn wir dennoch mehr zu der Auffassung neigen, daß die Präzipitine und die anaphylaktischen Antikörper verschieden sind, so liegt dies auch an einer anderen Beobachtung, auf die wir abschließend noch kurz hinweisen möchten. Bei den eingangs erwähnten Untersuchungen über den Nachweis artfremden Eiweißes, speziell von Pferdeserum in der Blutbahn des Kaninchens, wurde auch das Auftreten der Eiweißantikörper systematisch verfolgt. Nach den Untersuchungen von Hintze ergab sich dabei, daß der anaphylaktische Antikörper schon einige Tage vor dem Auftreten der Präzipitine im Serum der Kaninchen nachweisbar wird und bis zum Abbruch der Untersuchungen bis zum 16. Tage in gleicher Weise nachweisbar blieb, über einen Zeitraum also, während dessen die Präzipitine erst allmählich zur Entwicklung kamen, ihren Höhepunkt erreichten und später wieder deutlich in Rückbildung begriffen waren. Auch unter Berücksichtigung der Antiserumanaphylaxie Friedbergers scheint uns doch dieses wechselseitige unabhängige Verhalten der beiden Antikörper auf ihre Verschiedenheit hinzuweisen.

Zusammenfassung.

- 1) Antieiwweißsera können trotz hohen Präzipitingehalts nur eine geringe komplementbindende Wirkung entfalten.
- 2) Präzipitingehalt und anaphylaktisierende Wirkung von Antieiwweißseris gehen nicht immer parallel.
- 3) Der anaphylaktische Antikörper ist ein Antieiwweißkörper von Ambozeptorcharakter, jedoch nicht identisch mit dem Präzipitin.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie, Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Tuberkulose-Anaphylaxie.

Von Dr. Carlo Vallardi,

Assistent an der Klinik für Gewerbekrankheiten (Prof. Devoto) Mailand.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. Mai 1910.)

Die Theorie Friedbergers über das Wesen der Anaphylaxie als Antigen-Antikörperreaktion in vivo unter Bildung giftiger „Anaphylatoxine“ ist heute im wesentlichen anerkannt. Widersprüche in einzelnen Punkten rühren zum großen Teil daher, daß sie sich auf Ergebnisse stützen, die zu einer Zeit gewonnen wurden, wo wir über das Wesen des Phänomens noch völlig im Dunkeln waren. So wurden Versuche vielfach planlos ohne genügende Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse angestellt und Unterschiede rein quantitativer Natur wurden nur zu leichtfertig als qualitative Differenzen gedeutet.

Herrschen so schon in theoretischen Fragen noch vielfach konträre Anschauungen, so gilt das noch mehr da, wo versucht wurde, das Phänomen praktisch zu diagnostischen Zwecken zu verwenden.

Seit U. Friedemann im Jahre 1907, allerdings mit negativem Erfolg, versucht hat, die Tuberkulose-Anaphylaxie passiv zu übertragen, sind zahlreiche Arbeiten über diese Frage erschienen, die zu den widersprechendsten Resultaten geführt haben. Eine Reihe von Autoren haben das Vorhandensein einer Tuberkulose-Anaphylaxie behauptet, wie Yamanouchi, Bauer, Lesné und Dreifus, Caraffa, Bail, Helmholtz, Delanoe, Orsini.

Die Autoren, die diese Form der Anaphylaxie beobachtet haben wollen, waren zum Teil recht anspruchslos bezüglich der

Deutung der Symptome und geneigt, auch geringfügige Aenderungen im Befinden der Tiere, wie sie die bei der Erzeugung der Anaphylaxie notwendigen, keineswegs indifferenten Eingriffe bedingen als sichere Symptome anzusehen. Es ist aber verständlich, daß bei derartigen leichten Symptomen wie „Dyspnoe, Mattigkeit, Zittern“, wenn nicht genug Kontrollen angestellt werden, die subjektive Voreingenommenheit des Untersuchers nur zu leicht geneigt ist die objektive Erkenntnis des wahren Sachverhalts zu verschleiern.

Wenn wir sehen, wie Bauer sich nur mit der Temperaturerhöhung (39–40°) begnügte, um Anaphylaxie zu diagnostizieren, wie gar Lesné und Dreifus einen Anstieg der Temperatur um einen Grad als pathognomonisch ansehen, so ist allen diesen Versuchen gegenüber eine gewisse Skepsis wohl geboten.

So sehen wir dann auch, daß bereits Novotný, Simon, Frugoni, Joseph zu negativen Resultaten gelangten und an den Versuchen anderer Autoren berechnigte Kritik übten.

Als Anaphylaxie sollte eigentlich nur der Symptomenkomplex gedeutet werden, bei dem die Tiere bald die typische schwere Krankheit zeigen und i. R. unter akuten Krämpfen in wenigen Minuten eingehen. In den Fällen leichterer Anaphylaxie, in denen dieses Krankheitsbild nicht so deutlich ausgeprägt ist, sollten aber nur solche Symptome verwertet werden, die objektiv feststellbar sind. Das sind nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Mita der Temperatursturz und ferner die Komplementverarmung im strömenden Blut, wie sie zuerst Friedberger und Hartoch bei der Anaphylaxie systematisch studiert haben.

Akuter Tod war bisher von keinem der Autoren, die die „Tuberkulose-Anaphylaxie“ untersucht hatten, beobachtet worden.

Wenn das Phänomen unter den gewählten Bedingungen überhaupt zustande kommen sollte, so war zunächst einmal auf die eben angeführten objektiv meßbaren Symptome zu achten. Aus ihrem Fehlen wäre allerdings noch keineswegs zu folgern, daß überhaupt eine Tuberkulose-Anaphylaxie nicht

zustande kommt, nur soviel könnte man sagen, daß sie unter der gewählten Versuchsanordnung nicht eintritt.

Daraus Schlüsse auf ihr Fehlen überhaupt zu ziehen, wäre verfrüht. Sehen wir doch auch bei der Eiweißanaphylaxie, wie sehr der Eintritt der Vergiftung von den quantitativen Verhältnissen und den gewählten Tierspecies abhängt und wie fast für jedes Antigen und für jede einzelne Tierspecies die optimalen Bedingungen variieren.

Auf eine Anregung von Herrn Prof. Friedberger habe ich bei meinen Versuchen über Tuberkulose-Anaphylaxie meine Aufmerksamkeit auf das Studium jener beiden Symptome gerichtet, die, wie erwähnt, die empfindlichsten und feinsten Äußerungen der Eiweißanaphylaxie darstellen, nämlich den Temperaturabfall gleich nach der Reinjektion (H. Pfeiffer; Mita) und das Verhalten des Komplements, das nach den Untersuchungen von Friedberger und Hartoch sowohl bei der aktiven als besonders bei der passiven Eiweißanaphylaxie eine merkliche Abnahme infolge der Reinjektion erfährt.

Die Forschungen von Pfeiffer zeigen, daß die Temperatur von Meerschweinchen, die mit intraperitonealen Injektionen von 1—3 ccm Serum verschiedener Herkunft vorbehandelt sind, einen starken Abfall (bis zu 11°) sofort nach der intraperitonealen Reinjektion von gleichartigem Serum (1—3 ccm) erleidet.

In meiner ersten Untersuchungsreihe (vgl. Tabelle I) habe ich normale Meerschweinchen mit verschiedenen Dosen, nämlich 1—5 ccm inaktiven Serums von tuberkulösen Meerschweinchen oder Kaninchen vorbehandelt. Die Serumspender waren mit einer Kochsalzemulsion menschlicher Tuberkelbacillen infiziert worden. Die Meerschweinchen hatten 0,5 ccm einer $\frac{1}{100}$ -Normalösenaufschwemmung, die Kaninchen 2 ccm derselben Suspension erhalten. Alle Tiere waren bei der Sektion stark tuberkulös gefunden worden. Yamanouchi gibt an, daß das Serum der Meerschweinchen vor der vierten Woche nach der tuberkulösen Infektion keine Anaphylaxie-

Tuberkulöse Tiere		Normale Meerschweinchen										Resultat				
No.	Infektion mit Tuberkelbakterienkultur vor	No.	Gewicht g	Tb. Meer-schw.-Ser. intraperit. cem	Temperatur 1 ^h -10 ^h vor der Re-injektion	T.A.K. endov. cem	Reinjekt. nach	Temperatur nach								
								5'	10'	30'	1 ^h		2 ^h	4 ^h	8 ^h	12 ^h
Meerschw.																
106	35 Tagen	518 220 515 240 521 260	1 2 3	37,8-38,0 38,1-38,0 37,4-37,6	0,05 0,05 0,05	5 5 5	5 Tagen " " "	36,6 37,8 37,0 39,4 37,6 38,3 37,6 37,4 38,0 37,2 38,0 39,1 38,0 38,0 37,4 37,4 37,6 37,5 36,7 37,8 38,2 38,4 37,2 39,1 40,1 37,4 37,3	tot nach 48 Std. " n. 12 Tagen " 94 Std.							
150	35 Tagen	514 230 519 250 524 250	1 2 3	38,0-38,1 37,6-37,8 38,2-38,0	0,05 0,1 0,1	3 3 3	" " " " "	36,8 37,7 38,2 38,3 38,5 36,8 38,7 38,4 38,5 37,8 38,0 38,8 38,8 38,0 35,8 35,3 37,6 38,6 38,8 36,4 37,3 39,0 38,4 38,3 39,4	lebt tot nach 18 Std.							
147 V 4	47 " "	547 250 548 260	5 5	38,0-38,1 38,0-38,2	0,1 0,1	2 2	" "	36,4 37,2 38,8 38,0 38,0 38,2 37,3 37,0 37,0 37,6 38,6 39,8 39,8 38,8 40,0 39,0 39,2 38,0	lebt " " tot nach 5 Tagen							
V 10 295	51 Tagen "	608 280 605 290	5 5	37,6-38,2 37,4-37,4	Tb. Meer-schw.-Ser. 2 3	3 3	5 Tagen " "	35,9 36,0 36,2 36,5 36,7 38,6 38,3 37,0 35,8 38,0 40,0 39,6 39,0 38,8 38,3 38,0 37,9	tot nach 23 Std. lebt							
Kaninch.																
V 15	33 Tagen	520 210 517 220 516 230	1 2 3	38,0-37,8 37,7-37,9 38,7-38,9	T.A.K. 0,05 0,1 0,1	3 5 5	" " " " "	35,8 35,6 35,6 37,8 37,6 37,8 38,2 39,6 37,0 36,8 37,8 38,0 38,8 38,6 37,6 39,0 37,8 37,6 36,0 36,2 37,4 39,3 38,2 40,3 39,0 37,0 37,2	tot nach 30 Std. lebt tot nach 30 Std.							
Normale Tiere																
Meerschw.																
591	—	551 240	1	38,6-38,4	0,05	5	5 Tagen	37,0 37,0 39,2 39,6 39,4 39,8 38,5 38,3 37,6	lebt							
592	—	590 260	2	38,8-38,6	0,1	2	" "	37,0 38,0 38,6 38,5 37,8 37,5 38,2 38,6 38,8	tot nach 5 Tagen							
593	—	609 280	3	37,6-36,8	0,1	2	" "	35,8 37,0 38,0 37,8 38,6 38,9 39,0 38,8 38,1	dgf.							
594	—	V 21 280	5	37,6-37,8	Tb. Meer-schw.-Ser. 3	4	4 Tagen	36,2 35,2 35,2 37,4 37,5 35,8 33,6 32,6	tot nach 20 Std.							
Kaninch.																
513	—	522 200 525 190 523 230	1 2 3	38,0-37,8 37,0-37,0 37,0-37,2	T.A.K. 0,05 0,1 0,1	5 2 2	" " " " "	32,8 33,0 34,0 34,2 35,0 38,9 39,4 37,8 38,0 36,2 36,2 36,8 37,0 38,1 38,2 39,9 38,8 39,5 35,6 35,0 35,2 35,3 36,0 38,3 39,8 39,7 34,4	tot nach 30 Std. " " " "							
—	—	527 290 526 290	—	38,2-37,4 37,8-38,1	0,1 0,1	—	—	36,2 38,0 39,0 38,7 39,2 36,5 37,8 37,8 38,8 35,6 35,4 37,1 37,4 37,8 38,8 38,6 38,4 38,5	lebt "							

antikörper besitzt. Deshalb habe ich das Serum immer zwischen der 5. und 8. Woche entnommen.

Nach 1—5 Tagen injizierte ich einigen mit diesen Seris vorbehandelten Meerschweinchen wechselnde Dosen (0,05—0,1 ccm) Tuberkulinum Kochii (Merck, staatlich geprüft) intravenös. Andere Tiere erhielten statt des Tuberkulins zur Reinjektion 3 ccm aktives Serum von tuberkulösen Meerschweinchen. Die Rektaltemperatur wurde 1 Stunde und 10 Minuten vor der Reinjektion und dann 5, 10, 30 Minuten, 1, 2, 4, 8, 12, 24 Stunden nachher sorgfältig festgestellt. Bei nicht vorbehandelten Kontrolltieren befolgte ich dieselbe Methode unter Injektion entsprechender Dosen Normalserum und T.A.K.

Aus meinen Untersuchungen (Tabelle I) gelange ich zu folgenden Resultaten: Bei intraperitonealer Vorbehandlung mit dem Serum tuberkulöser Meerschweinchen und Kaninchen erhält man sofort nach der intravenösen Reinjektion von T.A.K. oder von Serum tuberkulöser Meerschweinchen einen leichten Temperaturabfall, der aber durchaus vorübergehender Natur und nicht spezifisch ist, da er auch (und zwar vielleicht in noch höherem Grade) bei den Kontrolltieren in Erscheinung tritt.

Die weiteren Temperaturschwankungen innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Reinjektion haben keinerlei spezifischen Charakter. Ein Teil der Tiere geht innerhalb 24 Stunden oder später ein, doch besteht auch hier keine wesentliche Differenz gegenüber den Kontrollen. Es scheint mir nicht zulässig, anzunehmen, daß das Tuberkulin für sich allein einen lang anhaltenden Einfluß auf die Temperatur ausübt, worin meine Untersuchungen sich mit denen von Arloing, Rodet, Courmont und Lesné-Dreyfus beführen.

Nach den Untersuchungen von Friedberger und Har-toch erleidet bei aktiv und passiv anaphylaktischen Meerschweinchen (Eiweißanaphylaxie) im Shock der Komplementgehalt des Serums einen merklichen Rückgang. Diese Vermutung ist jedoch bei der aktiven Anaphylaxie weniger deutlich als bei der passiven, wo sie bis zu einem völligen Schwunde führen kann.

Die von den Autoren angegebene Technik besteht in der Entnahme einiger Kubikzentimeter Blut aus der Carotis des Meerschweinchens in der ersten Sitzung, bevor in der zweiten die intravenöse Reinjektion in die Jugularis erfolgt. Nachdem dem Tier nochmals nach 5—6 Minuten Blut entnommen ist, kann man es in der dritten Sitzung nach 20 Minuten durch Entbluten töten. Ich habe¹⁾ mich zunächst in Vor-

Tabelle II.

Tuberkulöse Meerschw.		Normale Meerschweinchen														
No.	Infektion mit Tuberkelbac. Kultur vor	No.	Gewicht g	Tub. Meer-schw.-Ser. intraperit. ccm	T.A.K. endov. ccm	Hämolyse mit Komplementmengen in 1 ccm Volumen										
							0,08	0,06	0,04	0,02	0,01	0,009	0,008	0,006	0,004	0,002
—	—	V.31	400	—	0,1	vor T.A.K.	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
—	—	V.32	380	—	0,1	vor T.A.K.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
—	—	V.33	270	—	0,5	vor T.A.K.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
45	56 Tag.	—	—	—	0,1	vor T.A.K.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
109	57 Tag.	—	—	—	0,5	vor T.A.K.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
450	57 Tag.	V.22	450	5,0	0,5 (n. 2 Tag.)	vor T.A.K.	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
V. 2	60 Tag.	V.25	320	1,5	0,3 (n. 3 Tag.)	vor T.A.K.	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
		V.26	320	2,5	0,5 (n. 3 Tag.)	vor T.A.K.	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
—	—	526	300	0,1 (T.A.K.)	0,5 (n. 20 Tag.)	vor T.A.K.	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
						nachher 5'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—
						„ 20'	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—

1) Während der Korrektur erfuhr ich, daß auch Schenk zu denselben Resultaten gelangt ist wie ich.

versuchen (Tabelle II) davon überzeugt, daß Injektionen von Tuberkulin in kleinen Dosen an und für sich niemals das quantitative Verhalten des Komplements bei normalen Meerschweinchen ändern. Dann habe ich die Versuche an aktiv und passiv anaphylaktischen Meerschweinchen ausgeführt. Zur Komplementbestimmung diene immer ein und derselbe Ambozeptor. Die Technik war die von Friedberger und Hartoch beschriebene. Aus dieser zweiten Untersuchungsreihe kann ich schließen:

Das Tuberkulin erzeugt beim normalen Meerschweinchen keine merklichen quantitativen Veränderungen des Komplements. Auch bei tuberkulösen oder mit dem Serum tuberkulöser vorbehandelten Meerschweinchen bleibt die Komplementmenge sowohl vor der Reinjektion als nach ihr unter den von mir geübten Versuchsbedingungen regelmäßig konstant.

Zusammenfassung.

Eine Anaphylaxie mit typischen Symptomen ist innerhalb der üblichen, sich an die Versuche früherer Autoren anschließenden Versuchsanordnung bei Tuberkulose nicht zu konstatieren.

Auch die objektiven Symptome einer geringgradigen Ueberempfindlichkeit (Temperatursturz, Komplementverarmung) fehlen.

Literatur.

- 1) Bail, diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 4.
- 2) Bauer, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 24; Beiträge Klinik Tuberk., Bd. 13, 1909.
- 3) Bertarelli, Tuberculosis, 1908, Fasc. 4.
- 4) Caraffa, Riforma Med., 1909, No. 45.
- 5) Delanoe, Journ. Physiol. Pathol., T. 11, 1909, No. 3.
- 6) Friedberger und Hartoch, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 36; diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 6.
- 7) Friedemann, Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 49.
- 8) Frugoni, Policlinico, Sez. Med., 1910.
- 9) Hawthorn, Compt. rend. Soc. Biol., 1909, No. 8.
- 10) Helmholtz, diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 4.
- 11) Joseph, diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 5.

- 12) Lesné et Dreyfus, Compt. rend. Soc. Biol., 1909, No. 10.
- 13) Marie et Tiffenau, id., T. 64, 1908.
- 14) Novotný, diese Zeitschr., Bd. 3, Heft 7.
- 15) Micheli, Tuberculosis, 1909, Fasc. 1.
- 16) Orsini, Tubercolosi, 1910, Fasc. 7; diese Zeitschr., Bd. 5, Heft 1.
- 17) Pfeiffer, Berichte der Kaiserl. Akad. Wiss. Wien, Bd. 118, A. III; diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 1—2.
- 18) — und Mita, diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 4.
- 19) Quarelli, Giorn. R. accad. Med. Torino, 1909, No. 6—8.
- 20) Schenk, diese Zeitschr., Bd. 5, Heft 4.
- 21) Slatinéanu et Danielopolu, Compt. rend. Soc. Biol., T. 64, 1908.
- 22) — ibid., T. 68, 1910.
- 23) Simon, diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 4.
- 24) Turán, Budap. Orvosi Ujság., 1909, No. 32.
- 25) Yamanouchi, Wien. klin. Wochenschr., 1908, No. 47; Compt. rend. Soc. Biol., T. 66, 1909, No. 12.

Druckfehlerberichtigung.

In der Arbeit von Friedberger und Vallardi in der vorigen Nummer dieser Zeitschrift ist auf p. 157 Zeile 16 zu lesen statt:
 und selbst durch Oelsäure oleinsaures Natron ...
 uns selbst durch Oelsäure, oleinsaures Natron ...

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor:
Dr. Th. Madsen).]

**Die quantitative Ausführung der Wassermannschen
Reaktion.**

Von **Oluf Thomsen**, Abteilungsvorsteher am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 20. Juni 1910.)

In der sehr reichhaltigen Literatur über die Wassermannsche Reaktion findet man nur selten Angaben über Versuche, die Reaktion quantitativ auszuführen [Neisser, Bruck und Schucht¹⁾, F. Zeissler²⁾, H. Noguchi³⁾, Sormani⁴⁾, Boas⁵⁾, Thomsen⁶⁾], offenbar weil die vielen verschiedenen Faktoren, welche die Reaktion bedingen, als so variierend betrachtet werden, daß die sehr bedeutende Mühe, die die Durchführung einer quantitativen Untersuchung erfordert, in keinem Verhältnis steht zu den dadurch zu erzielenden Resultaten.

Da nun im Statens Seruminstitut die Reaktion von jeher quantitativ ausgeführt wurde und die Technik im Laufe der Zeit stets nach diesem Gesichtspunkt entwickelt worden ist, so dürfte es vielleicht nicht ohne Interesse sein, über die in dem Institut angewandte Technik und die ihr zugrunde liegenden Untersuchungen zu berichten.

Um die Reaktion quantitativ messen zu können, ist es erforderlich, daß alle ihre Elemente konstant bleiben, so daß

1) Deutsche med. Wochenschr., 1906, No. 48.

2) Berliner klin. Wochenschr., 1909, No. 44.

3) Serundiagnosis of Syphilis etc., Philadelphia und London 1910.

4) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., 30. Okt. 1909.

5) Berliner klin. Wochenschr., 1909, No. 9 u. 13.

6) Berliner klin. Wochenschr., 1909, No. 46.

die Verschiedenheiten der Stärke der Reaktion ausschließlich durch den verschiedenen Gehalt des Serums der Patienten an reagierenden Substanzen bedingt sind.

Wie man versucht hat, dies zu erreichen, werden die nachstehenden Darlegungen zeigen.

Das hämolytische System.

Als hämolytisches System wurde angewandt: Schafblut, Immunserum von Kaninchen und frisches Meerschweinchen-serum als Komplement. Wir haben es zweckmäßig gefunden, die Blutemulsion etwas dichter zu nehmen, als dies im allgemeinen üblich ist. Bei einer 5-proz. Emulsion verstehen wir daher nicht 5 ccm (zu 100) des defibrinierten Blutes, worin das Serum durch 0,9-proz. NaCl-Lösung ersetzt ist, sondern 5 ccm (zu 100) des abzentrifugierten Residuums von roten Blutkörperchen. Die Dichtigkeit der Blutkörperchen in dieser Stammemulsion kann man von Fall zu Fall nahezu konstant erhalten, wenn jedesmal die gleiche Menge Blutes in einer kräftig wirkenden Zentrifuge (4—6000 Umdrehungen in der Minute) zentrifugiert wird. Eine Zählung der Blutkörperchen hat ergeben, daß diese Emulsion — mit geringen Schwankungen — 25 Millionen Blutkörperchen pro 1 cmm enthielt.

Der Ambozeptor.

Was die Wirkung der beiden hämolytischen Bestandteile, des Ambozeptors und des Komplements, betrifft, so sind die Schwankungen des Komplementwertes von weit größerer Bedeutung als die des Ambozeptorwertes. Dies muß deshalb besonders hervorgehoben werden, weil mehrfach in der Literatur angegeben wird, eine Vergrößerung des Ambozeptorwertes könne eine Verminderung des Wertes des Komplements ersetzen. So gibt z. B. Noguchi¹⁾ an, wenn zur totalen Hämolyse eine Komplementeinheit und eine Ambozeptoreinheit erforderlich sei, so lasse sich dieselbe Wirkung erzielen durch Verwendung von $\frac{1}{5}$ der Komplementeinheit und

1) l. c. p. 14.

10 Ambozeptoreinheiten oder von $\frac{1}{10}$ der Komplementeinheit und 20 Ambozeptoreinheiten. Ganz ähnlich in neuester Zeit P. Skwirsky¹⁾ und Sleeswijk²⁾ u. a. Es bestehen wohl unzweifelhaft, wie auch von Sachs³⁾ erwähnt, Unterschiede bei den verschiedenen hämolytischen Systemen hinsichtlich des Umfanges, in welchem Komplement und Ambozeptor sich gegenseitig ersetzen können. Bei dem von uns befolgten System ist der Unterschied des Hämolysegrades sehr gering, wenn man für eine bestimmte Komplementmenge eine Ambozeptoreinheit oder ein Multiplum derselben nimmt. Der nachstehende Auszug aus unserem Versuchsprotokoll wird dies veranschaulichen.

1 ccm 5-proz. Schaffblutemulsion; mit 0,9-proz. NaCl-Lösung ist in allen Gläsern das Volumen auf 5 ccm gebracht.

Meer- schweinchen- komplement ccm	Hämolyse in Prozenten ⁴⁾ mit			
	1 Ambozeptor- einheit	4 Ambozeptor- einheiten	8 Ambozeptor- einheiten	20 Ambozeptor- einheiten
0,048	100	—	—	—
0,043	95	100	100	100
0,038	90	98	95	98
0,034	80	90	90	90
0,030	75	75	80	85
0,027	65	70	75	80
0,024	55	65	70	75
0,021	45	55	60	60
0,018	35	45	45	55
0,016	22	32	35	40
0,014	16	25	25	28
0,012	12	16	18	18
0,010	6	10	10	12

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 5, 1910, Heft 5.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 5, 1910, Heft 5.

3) Hämolyse und Antitoxine des Blutserums. Kraus und Levaditis Handbuch, Bd. 2, 1909, p. 950.

4) Die kolorimetrische Ausmessung wurde in folgender Weise vorgenommen: Von derselben Blutemulsion, welche zu den Versuchen gebraucht wird, wird eine Lösung hergestellt mit destilliertem Wasser in gleichem Verhältnis (1 + 4) wie zu der in den Versuchen gebrauchten Blutaufschwemmung in NaCl-Lösung. Also z. B. 20 ccm Blut-Stammemulsion + 80 ccm dest. Wasser. Diese Blutlösung (A) wird mit der Ziffer 100 bezeichnet und es werden daraus eine Anzahl von Verdünnungen hergestellt,

Es zeigte sich wohl eine geringe Zunahme der Hämolyse infolge Vermehrung der Ambozeptormenge, jedoch nicht entfernt in solchem Maße, wie nach den oben zitierten Angaben in der Literatur zu erwarten wäre. Daß die obigen Versuchsergebnisse nicht einem einzelnen Immunserum eigentümlich sind, ergibt sich daraus, daß wir mit dem gleichen Ergebnis mehr als 20 verschiedene ambozeptorhaltige Sera untersucht haben. Wir können daher auch dem Umstand keine Bedeutung beimessen, daß der in Menschenserum enthaltene Gehalt an natürlichen Schafblutambozeptoren schwankt, so daß man aus diesem Grunde dazu übergehen müßte, ein hämolysches System mit Menschenblutkörperchen anzuwenden, wie von Noguchi vorgeschlagen wurde. Ein solches System bringt außerdem noch die Gefahr mit sich, daß gelöstes Hämoglobin in dem Serum der Patienten in Verbindung mit dem spezifischen Immunserum für Menschenblut eine Kom-

die absteigende Hämoglobinmengen enthalten. Diese Skala gibt dann den Hämolysegrad prozentual an.

Hämolyseskala.

Glas No.	Blutlösung A.	Dest. Wasser	Hämolysen-Prozente
1	10 ccm	0 ccm	100
2	9 "	1 "	90
3	8 "	2 "	80
4	7 "	3 "	70
5	6 "	4 "	60
6	5,5 "	4,5 "	55
7	5 "	5 "	50
8	4,5 "	5,5 "	45
9	4 "	6 "	40
10	3,5 "	6,5 "	35
11	3 "	7 "	30
12	2,5 "	7,5 "	25
13	2 "	8 "	20
14	1,8 "	8,2 "	18
15	1,6 "	8,4 "	16
16	1,4 "	8,6 "	14
17	1,2 "	8,8 "	12
18	1 "	9 "	10
19	0,8 "	9,2 "	8
20	0,6 "	9,4 "	6
21	0,4 "	9,6 "	4
22	0,2 "	9,8 "	2
23	0 "	10 "	0

Für das Weitere verweise ich auf Th. Madsen: Allgemeines über bakterielle Antigene, Toxine usw. in Kraus und Levaditis Handbuch, Bd. 1, 1908, p. 63.

plementbindung verursachen und sonst vielleicht zu Irrtümern Anlaß geben könnte.

Die obigen Hämolyseziffern beziehen sich auf die nach Hinstellen bei 37° während 2 Stunden gewonnenen Resultate; im Verlauf dieser Zeit ist die Hämolyse beendet. Während nun also in dem Schlußergebnis der Unterschied ein geringer oder fast belangloser ist, läßt sich ein sehr deutlicher Unterschied der Schnelligkeit der Reaktion (des Eintretens der Hämolyse) konstatieren, je nachdem man eine Ambozeptoreinheit oder ein Multiplum derselben gebraucht. Die nachstehende Untersuchung wird dies veranschaulichen.

Durch eine Voruntersuchung wurde die Ambozeptoreinheit für 1 ccm 5-proz. Schafblutkörperchen festgestellt mit 0,05 ccm Meerschweinchenserum als Komplement zu 0,001 ccm Immunserum.

In 6 Gläsern wurden zu 1 ccm Blut 0,05 ccm Meerschweinchenserum und jeweils 1, 2, 4, 8, 16 und 32 Ambozeptoreinheiten hinzugesetzt. Das Volumen war in allen Gläsern 5 ccm.

Ambozeptoreinheiten	Hämolyse nach Hinstellen im Wasserbad (37°) während				
	4 Minuten	6 Minuten	10 Minuten	15 Min.	2 Std.
1	keine	Spuren ?	schwach	deutlich	total
2	"	schwach	deutlich	stark	"
4	Spuren	deutlich	stark	total	"
8	schwach	stark	fast total	"	"
16	deutlich	sehr stark	total	"	"
32	sehr deutlich	fast total	"	"	"

In einer gleichzeitigen Paralleluntersuchung mit gleicher Ambozeptormenge und absteigenden Komplementmengen zeigte sich nach 2-stündigem Hinstellen im Wasserbad und 3-stündigem Hinstellen im Eiskeller (zur Sedimentierung der nicht gelösten Blutkörperchen) folgende Hämolyse.

Komplementhaltiges Meerschweinchenserum in ccm	Ambozeptoreinheiten					
	1	2	4	8	16	32
Hämolyse						
0,050	100	100	100	100	100	100
0,048	70	80	80	80	90	80
0,034	60	70	70	70	65	70
0,027	55	60	60	60	60	65
0,021	45	55	60	60	55	55
0,016	30	40	45	55	45	45
0,012	20	28	30	35	30	30

Da die Relation zwischen den Werten des Ambozeptors und des Komplements für die Hämolyse mir ein Hauptpunkt in jeder quantitativ ausgeführten Komplementbindungsreaktion zu sein scheint, habe ich sie so ausführlich erörtert, ohne jedoch den Gegensatz erklären zu können, der unzweifelhaft zwischen den hier vorgelegten Resultaten und den in der Literatur zahlreich vorkommenden, gänzlich abweichenden Angaben besteht.

Das Komplement.

Von großer Bedeutung ist die Menge bzw. der Wert des verwendeten komplementhaltigen Meerschweinchenserums. Für die Wassermannsche Reaktion wird von den meisten — nach Maßgabe der ursprünglichen Angabe Wassermanns und seiner Mitarbeiter — 0,1 ccm für 1 ccm einer 5-proz. Blutaufschwemmung benutzt. Falls der Wert dieses Komplements erheblich variiert, so ist es klar, daß das Ergebnis der Wassermann-Reaktion von solchen Schwankungen des Komplementwertes in hohem Maße abhängen muß, wenn immer die gleiche absolute Menge (0,1 ccm) verwendet wird. In der Literatur wird man zahlreiche Angaben finden über bedeutende Schwankungen des Komplementwertes von Meerschweinchenserum. Browning und McKenzie¹⁾ fanden sogar, daß die gleiche Menge Meerschweinchenserums von 7—40 Komplementeinheiten enthalten könne. Diese Verfasser haben Ochsenblutkörperchen als Objekt der Hämolyse benutzt, wodurch sich vielleicht diese großen Schwankungen erklären lassen. Schafblutkörperchen gegenüber haben wir einen bei weitem konstanteren Wert des Meerschweinchenkomplements gefunden. Wir haben im ganzen 105 verschiedene Meerschweinchensera genau titriert. Als Beispiel sollen die mit fünf verschiedenen, zufällig herausgegriffenen Sera gewonnenen Resultate angeführt werden, die zu gleicher Zeit gegenüber der gleichen Blutemulsion untersucht wurden.

Austitrierung von 5 verschiedenen Meerschweinchensera gegenüber der gleichen Blutemulsion (1 ccm einer 5-proz. Schafblutaufschwemmung); 2mal Ambozeptoreinheit.

1) Zeitschr. für Immunitätsforsch. und exp. Therapie, Orig., Bd. 2, 1909, Heft 4.

Meerschweinchen- serum in ccm	Hämolyse in Prozenten				
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
0,048	100	100	100	100	100
0,042	100	98	98	100	95
0,038	95	90	90	95	90
0,034	90	85	85	88	80
0,030	85	78	75	85	70
0,027	80	70	70	75	65
0,024	70	58	55	65	60
0,021	60	50	48	60	50
0,018	50	35	35	55	40
0,016	38	30	30	40	35
0,014	30	22	25	35	25
0,012	20	16	14	25	18
0,010	12	10	10	16	12

Faßt man das Resultat der für jedes einzelne der 105 untersuchten Meerschweinchensera gefundenen Werte zusammen, so ergibt sich als Mittel¹⁾ der 105 Zahlen, die die Menge der geringsten total lösenden Dosis angeben, 0,043 ccm. Die gefundenen Werte verteilen sich folgendermaßen:

Geringste total lösende Menge	
0,080 ccm	1mal
0,060 "	2 "
0,054 "	12 "
0,048 "	24 "
0,043 "	30 "
0,028 "	24 "
0,034 "	9 "
0,030 "	3 "
Summa 105	

Es zeigt sich also, daß der Gehalt an Komplement in frischem Meerschweinchenserum sich dem Schafblut gegenüber als weit konstanter erwies, als nach verschiedenen Angaben in der Literatur zu erwarten war. Außerdem waren die gefundenen Unterschiede in Wirklichkeit nicht zur Hauptsache in einem Schwanken des Komplementgehaltes in dem Meerschweinchenserum begründet, sondern in geringen Verschiedenheiten der jeweiligen Blutemulsionen, teils hinsichtlich der Dichtigkeit, teils hinsichtlich der Lösbarkeit.

1) Diese Angabe bezieht sich auf das Serum oder richtiger das Plasma von defibriniertem Blut. Bei Verwendung von Serum aus Meerschweinchenblut, welches spontan koaguliert ist, scheint der Wert des Komplements sich zu vergrößern.

Obwohl der Komplementgehalt sich somit in bei weitem den meisten Fällen als ziemlich konstant erweisen wird, ist es doch unbedingt erforderlich, das Komplement jedesmal zu titrieren, wenn man mit dem quantitativen Verfahren sicher arbeiten will; es ist ja übrigens auch eine Tatsache, daß gewisse krankhafte Zustände, in ganz besonders hohem Grad z. B. der anaphylaktische Shock, ein gänzlich oder teilweises Schwinden des Komplements verursachen können (Michaelis, Friedberger, Sleeswijk u. a.). Ferner ist zu bemerken, daß wir aus ökonomischen Gründen fast durchweg schon gebrauchte Meerschweinchen benutzten (meist Tiere, die zur Bestimmung von Diphtherieantitoxin verwendet worden waren), jedoch ohne größere Schwankungen wahrgenommen zu haben, als die oben erwähnten. Das Gewicht der Tiere betrug im Minimum 300 g. Gegenüber der Angabe Zeisslers, daß Menschenserum noch nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Inaktivierung nicht selten Komplement enthalte, ist hervorzuheben, daß Boas bei Untersuchungen hier im Institut unter 300 verschiedenen Menschensera in keinem Falle nach $\frac{1}{2}$ -ständiger Inaktivierung eine meßbare Komplementmenge in 0,2 ccm Serum fand.

Vorversuche vor Ausführung der Wassermann-Reaktion.

Das hämolytische System wird nun vor jeder Untersuchung der Sera der Patienten (untersucht werden jedesmal 50–100 Blutproben) wie folgt eingestellt:

Vorversuch I. Titrierung des Komplements.

Komplement (Verdünnung 1:10)	NaCl-Lösung (0,9-proz.)	Ambozeptorverdünnung (in jedem ccm 2 Einheiten)	Schafblut (5-proz.)
0,8 ccm	0,2 +2 ccm	1 ccm	1 ccm
0,7 "	0,3 +2 "	1 "	1 "
0,6 "	0,4 +2 "	1 "	1 "
0,54 "	0,46 +2 "	1 "	1 "
0,48 "	0,52 +2 "	1 "	1 "
0,43 "	0,57 +2 "	1 "	1 "
0,38 "	0,62 +2 "	1 "	1 "
0,34 "	0,66 +2 "	1 "	1 "
0,30 "	0,70 +2 "	1 "	1 "
1 ccm			
3 ccm			
5 ccm			

Durch diese Titrierung wird die geringste total lösende Komplementmenge gefunden, die, wie oben erwähnt wurde, gewöhnlich ungefähr 0,043 ccm beträgt. Die Ambozeptorstärke wird zu 2 Einheiten festgesetzt. Sie wird meistens von Fall zu Fall während mehrerer Monate konstant bleiben, wenn das ambozeptorhaltige Kaninchenserum nach vorausgehender Inaktivierung in gefrorenem Zustand aufbewahrt wird. Da wir es zudem nach den obigen Untersuchungen für irrelevant halten müssen, ob die Ambozeptorkonzentration ein wenig stärker oder schwächer ist, natürlich vorausgesetzt, daß in jedem Kubikzentimeter mindestens eine Ambozeptoreinheit enthalten ist, so darf die Wirkung von 1 ccm Ambozeptorverdünnung von Fall zu Fall als unverändert angesehen werden. Trotzdem nehmen wir jedesmal eine Vorprüfung vor, hauptsächlich um uns zu überzeugen, daß der Ambozeptor seinen Titer unverändert erhalten hat.

Vorversuch II. Titrierung des Ambozeptors.

Ambozeptor- verdünnung (0,1 : 100)	NaCl-Lösung (0,9-proz.)	Komplement ¹⁾ (Verdünnung 1:10)	Schafblut (5-proz.)
1,0 ccm	2,2 ccm	0,8 ccm	1 ccm
0,8 "	0,2+2,2 "	0,8 "	1 "
0,6 "	0,4+2,2 "	0,8 "	1 "
0,4 "	0,6+2,2 "	0,8 "	1 "
0,2 "	0,8+2,2 "	0,8 "	1 "
0,1 "	0,9+2,2 "	0,8 "	1 "
1 ccm			
4 ccm			
5 ccm			

In den meisten Fällen lag der Titer der benutzten ambozeptorhaltigen Kaninchensera ungefähr bei 0,0004.

Schließlich wird durch den letzten Vorversuch die anti-komplementäre Kraft des als „Antigen“ verwendeten alkoholischen Herzextraktes titriert.

1) Das Komplement ist so reichlich bemessen, daß ein Komplementmangel ausgeschlossen ist.

Vorversuch III. Titrierung der antikomplementären Kraft
des Organextraktes.

Herzextrakt unverdünnt ¹⁾	Komplement (Verdünnung 1:10)	NaCl-Lösung (0,9 Proz.)	Ambozeptor- verdünnung (in jedem ccm 2 Einheiten)	Schafblut (5-proz.)
0,2 ccm	1,0 ccm	0,8 +1 ccm	1 ccm	1 ccm
0,2 "	0,9 "	0,9 +1 "	1 "	1 "
0,2 "	0,8 "	" +2 "	1 "	1 "
0,2 "	0,7 "	0,1 +2 "	1 "	1 "
0,2 "	0,6 "	0,2 +2 "	1 "	1 "
0,2 "	0,54 "	0,26 +2 "	1 "	1 "
3 ccm			5 ccm	

In der Regel zeigt es sich, daß die durch den Organextrakt allein gebundene Komplementmenge etwa 0,03 ccm Meerschweinchenserum beträgt. Die Hämolysehemmung ist größtenteils durch den Aethylalkohol an sich verursacht, jedoch können auch verschiedene extrahierte lipide Substanzen eine Hemmung erzeugen.

Die quantitative Ausführung der Wassermann-
schen Reaktion.

Die Reaktion selbst wird nun so ausgeführt, daß das Serum der Patienten in folgenden²⁾ Mengen untersucht wird: 0,2 ccm, 0,1 ccm, 0,05 ccm, dann, sofern mit 0,05 ccm noch eine totale Hemmung eintritt, in den Mengen: 0,025 ccm, 0,012 ccm usw., bis die Hemmung partiell wird oder ganz aufhört. Für jede Blutprobe wird in einem Kontrollglas die eventuelle hemmende Kraft des Serums allein untersucht. In diesem Glas wird nur die durch den Vorversuch I festgestellte Menge Meerschweinchenkomplement genommen, welche zur

1) Sachs und Rondoni (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. und exp. Therapie, Orig., Bd. 1, 1908, Heft 1) geben an, daß die komplementbindende Kraft des alkoholischen Extraktes schwankt, je nachdem der Auszug „fraktioniert“ wird durch allmähliches Hinzufügen der NaCl-Lösung oder durch einmaliges. Wir benutzen den Extrakt unverdünnt, indem wir ihn nach Zusatz der NaCl-Lösung und des Komplements aus der Pipette an der Seite des Reagenzrohres herunterlaufen lassen. Er legt sich dann als eine Schicht oben auf das Wasser; das Rohr wird darauf gut umgeschüttelt. Wir haben bei diesem Verfahren nie inkonstante Resultate wahrgenommen.

2) Neuerdings benutzen wir aus ökonomischen Gründen von jedem nur halbe Dosen.

totalen Hämolyse erforderlich ist. Wenn nun das Serum des Patienten schon für sich das Komplement binden kann, so wird dies sich in einer Hemmung der Hämolyse äußern, und aus deren Grad ist die Menge des außer Funktion gesetzten Komplements zu erschließen. Für die übrigen, den Organextrakt und das Serum des Patienten in den oben erwähnten absteigenden Mengen enthaltenden Gläser nimmt man die total lösende Komplementmenge + die durch den Organextrakt gebundene Menge (meistens ca. 0,08 ccm). Bei dieser Anordnung der Untersuchung ist es immer möglich, die Wirkungen aller einzelnen Faktoren der Reaktion zu überblicken. Zeigt die Kontrolle eine totale Hämolyse, so ist die Möglichkeit einer „Summation“ der antikomplementären Wirkung des Extrakts und des Serums abzuweisen. Benutzt man dagegen immer sowohl für das Kontrollglas als auch für die übrigen 0,1 ccm Meerschweinchenserum, so wird eine eventuelle Eigenhemmung des Serums des Patienten unbemerkt bleiben, auch wenn mehr als die Hälfte der benutzten Komplementmenge durch das Serum des Patienten allein gebunden worden ist. Indem man die zwei verschiedenen Komplementmengen benutzt, für das Kontrollglas die eben total lösende Menge und für die übrigen dieselbe Menge + die durch den Organextrakt neutralisierte Menge, sichert man sich einerseits gegen falsche Beurteilung einer gegebenen Hämolysehemmung, andererseits ermöglicht man dadurch die Benutzung auch von eigenhemmenden Sera, wenn die Eigenhemmung erst durch eine gleichwertige Komplementmenge kompensiert worden ist.

Wir haben diese Dosierung des Komplements bei der Untersuchung von mehr als 4000 Blutproben angewandt und es ist uns auf diese Weise häufig gelungen, eine positive Reaktion zu erzeugen in Syphilisfällen, besonders wo es sich um schon behandelte und inveterierte handelte, wo mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum infolge des zu großen Komplementüberschusses keine Reaktion eintrat. Hierbei halte man sich auch das vor Augen, daß die — nach Wassermanns Vorgang — gewöhnlich benutzte Blutemulsion erheblich dünner ist als die hier in dem Institut angewandte, und daß der Komplementüberschuß daher relativ bedeutend größer wird bei der Wassermannschen Anordnung der Untersuchung. Wie schon erwähnt wurde, haben wir — nach 2-stündigem

Stehen der Gläser im Wasserbad bei 37° und dann über Nacht im Eiskeller — den Grad der Hämolyse kolorimetrisch bestimmt und eine deutliche Hemmung (Hämolyse 60—50) der Hämolyse als positive Reaktion gerechnet. Vereinzelt kam es vor, daß wir eine positive Reaktion (Hämolysenhemmung bis zu 20 mit 0,2 ccm Patientenserum) fanden, wo das Serum von Patienten herrührte, welche höchstwahrscheinlich nicht syphilis- (oder lepra-)krank waren; wir haben daher solche Fälle, in denen die Hämolysenhemmung bei Benutzung von 0,2 ccm Serum nicht vollständig war, als „verdächtig“ im Hinblick auf Syphilis bezeichnet und dazu aufgefordert, die Untersuchung nach Verlauf von einigen Wochen zu wiederholen. Meistens haben diese „verdächtigen“ Fälle sich später bei fortgesetzter Observation als Syphilis entpuppt. Man muß ja nicht vergessen, daß die positive Wassermann-Reaktion, so wichtig sie als Symptom ist, das Vorhandensein der Syphilis im Einzelfalle nicht beweisen, sondern nur, je nach den gegebenen Umständen mehr oder minder überzeugend, die Richtigkeit der Diagnose wahrscheinlich machen kann.

Das „Antigen“.

Eine Voraussetzung für die Möglichkeit einer quantitativen Ausführung der Reaktion ist natürlich, daß die zur Verwendung kommende Dosis des „Antigens“ jedesmal die gleiche Wirkung hat in Verbindung mit einer gegebenen Menge reagierender Stoffe in dem Serum des (Syphilis-)Kranken. Schon durch die ersten Arbeiten von Wassermann, Marie und Levaditi u. a. ist es nachgewiesen worden, daß wässrige Extrakte aus nichtsyphilitischen Organen bei weitem weniger wirksam sind als wässrige Extrakte aus kongenital-syphilitischen Organen; wir können, wie auch viele andere Untersucher, diese Beobachtung vollauf bestätigen. Was die alkoholischen Extrakte betrifft, so bestehen hier große Unterschiede zwischen ihren Werten als „Antigen“, je nach den Organen, aus denen sie gewonnen sind, bzw. dem Zustand des Organs, ob pathologisch verändert (syphilitisch, leprös usw.) oder nicht. Unsere eigenen Erfahrungen lehrten, daß alkoholische Extrakte aus nichtsyphilitischen Organen, z. B. Leber, Milz, Nieren, von äußerst verschiedener Verwendbarkeit sind, daß dagegen alkoholischer Extrakt aus Menschenherzen (pathologisch verändert

oder nicht) nicht nur sehr wertvoll, sondern auch von auffällig konstanter Wirkung ist.

Unsere Extrakte sind durch Umschütteln von fein zerhacktem Herzfleisch mit absolutem Alkohol gewonnen (zu 1 g 10 ccm Alkohol). Um die konstante Wirkung der Extrakte zu illustrieren, soll hier die nachstehende, mit 40 verschiedenen Herzextrakten zu gleicher Zeit angestellte Untersuchung als Beispiel gegeben werden.

Alkoholischer Herzextrakt	Grad der Hämolyse mit Komplement 0,08 und 1) Patientenserum			
	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,025 ccm
No. 1	0	10	90	100
" 2	0	18	90	100
" 3	0	35	100	100
" 4	0	8	90	100
" 5	0	8	90	100
" 6	0	10	90	100
" 7	0	12	100	100
" 8	0	14	90	100
" 9	0	10	90	100
" 10	0	10	80	100
" 11	0	10	80	100
" 12	0	12	90	100
" 13	0	12	70	100
" 14	0	25	90	100
" 15	0	8	100	100
" 16	0	18	90	100
" 17	0	40	90	100
" 18	0	10	80	100
" 19	0	10	80	100
" 20	0	12	90	100
" 21	0	16	90	100
" 22	0	20	80	100
" 23	0	10	90	100
" 24	0	20	90	100
" 25	0	8	80	100
" 26	0	20	80	100
" 27	0	10	90	100
" 28	0	30	90	100
" 29	0	20	90	100
" 30	0	35	90	100
" 31	0	12	90	100
" 32	0	10	80	100
" 33	0	35	90	100
" 34	0	10	80	100
" 35	0	12	90	100
" 36	0	8	90	100
" 37	0	25	90	100
" 38	0	14	80	100
" 39	0	12	90	100
" 40	0	10	70	100

1) Zu allen Proben dasselbe Serum.

Ein nicht weniger gleichartiges Resultat ergaben verschiedene andere Sera von Syphilitikern mit den erwähnten 40 Extrakten. In dem alkoholischen Herzextrakt haben wir somit ein Reagens von konstanter Wirkung, welches zudem sehr leicht zu beschaffen ist. Paralleluntersuchungen mit Herzextrakt und alkoholischem Extrakt aus syphilitischer Leber gaben uns keinen Anlaß, den letzteren vorzuziehen. Einige wenige Syphilisextrakte erwiesen sich zwar als recht wertvoll, übertrafen aber nicht die Herzextrakte an Verwendbarkeit, während andere Syphilisextrakte von weit geringerem Wert waren.

Daß die Herzextrakte so gute und konstante Resultate geben, liegt möglicherweise daran, daß die zu extrahierenden wirksamen Substanzen in dem Herzfleisch so reichlich vorhanden sind, daß der Auszug eine gesättigte Lösung derselben wird. Dies scheint sich auch aus Versuchen mit Extrakt aus schon einmal bzw. mehrmals extrahiertem Herzfleisch zu ergeben. Das nachstehende Schema über Extrakte aus 5 verschiedenen Herzen (zufällig herausgegriffen) zeigt die konstante Wirkung all der 5 ersten Extrakte (Extrakt 1). Die Extrakte aus schon einmal extrahiertem Herzfleisch (Extrakt 2) sind von deutlich verschiedener Wirksamkeit; 2 unter ihnen sind ebenso wirksam wie der Extrakt 1, die Wirkung der übrigen ist geringer. Die Extrakte 3 schließlich sind nur wenig oder gar nicht wirksam.

		Extrakt 1				Extrakt 2				Extrakt 3			
		Hämolysenziffer mit Serum				Hämolysenziffer mit Serum				Hämolysenziffer mit Serum			
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,025 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,025 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm	0,025 ccm
Herz	No. 1	0	14	80	100	0	20	80	100	30	80	100	100
"	" 2	0	20	90	100	0	80	100	100	60	90	100	100
"	" 3	0	10	70	100	0	60	90	100	70	90	100	100
"	" 4	0	30	80	100	0	10	80	100	40	80	100	100
"	" 5	0	10	70	100	0	70	90	100	80	90	100	100

Wie schon erwähnt, haben wir bei der Benutzung erster Extrakte außerordentlich konstante Resultate gefunden und verwenden deshalb überhaupt nicht mehr Extrakte aus syphilitischen Organen, indem diese teils schwierig zu beschaffen sind, teils aber auch sehr inkonstant und — wenigstens gilt

das von den Extrakten, die wir zur Verfügung hatten — nicht empfindlicher sind als die Herzextrakte.

Infolge der Leichtigkeit, die Extrakte herzustellen, werden nur frische Extrakte benutzt, d. h. solche, die nicht mehr als 8 Tage alt sind. Die Extrakte werden bei niedriger Temperatur, etwa 0—5°, aufbewahrt. Es erfolgt dadurch eine Fällung, jedoch löst sich der Niederschlag leicht wieder, wenn der Extrakt kurze Zeit einer Temperatur von 37° ausgesetzt wird. Systematische Untersuchungen, die mit Extrakten von verschiedenem Alter (bis zu 12 Monaten) angestellt wurden, haben gezeigt, daß die Extrakte ziemlich dauerhaft sind, vereinzelt kam es aber doch vor, daß die Wirksamkeit der Extrakte auf die Dauer merkbar abgeschwächt wurde und anderseits ergab einmal ein Extrakt nach langwieriger Aufbewahrung Komplementbindung mit dem Serum nichtsyphilitischer Individuen. Derartige Unregelmäßigkeiten wurden bei frischen Extrakten nie beobachtet.

Betreffs der übrigen technischen Einzelheiten haben wir die Vorschriften Wassermanns befolgt. Die Inaktivierung der Sera ist unbedingt erforderlich, weil sonst eine große Anzahl von nichtsyphilitischen positive Reaktion ergeben wird. Solche „nichtsyphilitische“ Komplementbindungen mit nicht-inaktiviertem Serum wurden zuerst von Sachs und Altman¹⁾ beobachtet und ihre Angaben sind später von Boas²⁾ durch systematische Untersuchungen hier im Institut bestätigt worden. Aus diesem Grunde haben wir auf Modifikationen der Wassermannschen Reaktion ganz verzichtet, die nicht-inaktiviertes Patientenserum benutzen.

Betreffs der zur Bindung des Komplements erforderlichen Zeit gibt Wassermann bekanntlich an, die Gläser mit „Antigen“, Syphilisserum und Komplement sollen während 1 Stunde bei 37° stehen, ehe Blut hinzugesetzt werde. Sowohl Satta und Donati³⁾ als Seligmann und Pinkus⁴⁾ haben später gefunden, daß die Komplementbindung sofort einsetzt und nicht nur bei 37°, sondern auch bei Stuben-

1) Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 9.

3) Archivio per le Scienze mediche, Vol. 23, No. 11.

4) Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exp. Therapie, Bd. 5, 1910, H. 4.

temperatur, ja sogar bei sehr niedriger Temperatur (0—10°) erfolgt. Seligmann und Pinkus konstatieren, daß die Schnelligkeit, womit das Komplement durch die verschiedenen Patientensera gebunden wird, sehr variabel ist (von 0—40 Minuten) und bringen diese Unterschiede in Verbindung mit quantitativen Verschiedenheiten des Gehaltes der verschiedenen Sera an wirksamen Substanzen. Unsere Untersuchungen bestätigen dies vollauf. Bei reichlichem Gehalt an wirksamen Stoffen in den Sera der Patienten erfolgt die Bindung des Komplements momentan, bei geringem Gehalt sind 45—60 Minuten erforderlich. Die Verschiedenheiten in der Geschwindigkeit der Reaktion erwiesen sich durch unsere Untersuchungen als bloße Funktion der Konzentration; dagegen konnte, wenn verschiedene Sera durch Verdünnung gleichen Gehalt an wirksamen Substanzen (Reaginen) auf die Volumeinheit bekamen, kein Unterschied der Avidität wahrgenommen werden.

Dienachstehende Untersuchung, die mit absteigenden Mengen eines Serums angestellt wurde, welches in der Dosis 0,2 ccm totale Hämolysehemmung, in der Dosis = 0,1 ccm die Hämolyse 35 nach einstündiger Bindungsdauer ergab, zeigt die Bedeutung der Zeitdauer für die Bindung des Komplements.

Komplement 0,08 ccm, Herzextrakt 0,2 ccm, Ambozeptor 2 Einheiten, Blut 5-proz. 1 ccm.

Patienten- serum:	Hämolyse nach Bindungsdauer von 15'	Hämolyse nach Bindungsdauer von 30'	Hämolyse nach Bindungsdauer von 60'
0,200	0	0	0
0,190	0	0	0
0,181	6	0	0
0,171	10	8	8
0,162	16	12	8
0,154	20	14	12
0,146	25	18	14
0,139	30	20	18
0,132	35	25	18
0,125	35	30	22
0,118	45	35	27
0,112	50	40	35
0,106	55	45	30
0,100	60	48	35

Während also die Menge 0,2 ccm schon nach einer Bindungsdauer von 15 Minuten totale Hemmung ergibt, läßt sich bei den geringeren Dosen deutlich ein Unterschied wahrnehmen.

Wir sind deshalb bei der ursprünglichen Vorschrift Wassermanns geblieben, wonach 1 Stunde der zur Bindung erforderliche Zeitraum ist.

Um zu zeigen, mit welcher Sicherheit die angegebene Methode fungiert, sollen die Ergebnisse von 100 gleichzeitig angestellten Untersuchungen zweier verschiedener Sera (A und B) hier vorgelegt werden.

Mit 0,2 und 0,1 ccm des Serums A ergaben alle 100 Proben totale Hemmung der Hämolyse, mit 0,05 ccm war die Hämolyse partiell; der Grad wird durch die nachstehenden Zahlen, welche nach dem Hämolysengrad angeordnet sind, bezeichnet:

35	40	45	45	50	55	55
40	40	45	50	50	55	60
40	45	45	50	50	55	60
40	45	45	50	50	55	60
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	
40	45	45	50	50	55	

Mit 0,2 ccm des Serums B ergaben ebenfalls alle 100 Proben totale Hemmung; mit 0,1 ccm waren die Hämolysezahlen folgende:

14	18	20	25	30	35
14	18	20	25	30	35
16	18	20	25	30	40
16	18	20	25	30	
16	18	20	25	30	
16	18	20	25	30	
16	20	20	25	30	
16	20	20	25	30	
18	20	20	25	30	
18	20	20	25	30	
18	20	20	25	30	
18	20	20	25	30	
18	20	20	25	30	
18	20	—	25	30	
18	20	—	25	30	
18	20	25	25	30	
18	20	25	—	30	
18	20	25	—	—	
18	20	25	30	—	
18	20	25	30	—	
18	20	25	30	—	

Ein Bild von den Fehlergrenzen des Verfahrens geben die folgenden beiden Versuche: mit einem gegebenem Serum wurde die Menge festgestellt, die eine so starke Komplementbindung ergab, daß das überflüssige Komplement die Hämolyse 20 (Proz.) erzeugen konnte; es zeigte sich, daß sie 0,118 ccm betrug. Die Reaktion wurde dann auf die übliche Weise mit folgenden Mengen Patientenserums angestellt:

0,139 ccm
 0,132 „
 0,125 „
0,118 „
 0,112 „
 0,106 „
 0,100 „

Dies wurde 7mal wiederholt. Nach Ausführung der Reaktion wurde aus jeder der 7 Gruppen dasjenige Glas ausgewählt, welches die Hämolyse 20 ergab, und dies entsprach den folgenden Mengen:

0,118 ccm	0,125 ccm
0,125 „	0,132 „
0,112 „	0,132 „
0,125 „	

Die Mittelzahl hiervon ist 0,124 und der Mittelfehler 0,0072 = 5,8 Proz. der Mittelzahl.

In einem zweiten Versuch wurden in gleicher Weise die Mengen, welche die Hämolyse 40 ergaben, festgestellt. Die gefundenen Mengen waren:

0,112 ccm	0,092 ccm
0,095 „	0,100 „
0,090 „	0,095 „
0,095 „	0,095 „

Die Mittelzahl hiervon ist 0,096 und der Mittelfehler 0,0069 = 7,1 Proz. der Mittelzahl.

Während die bisherigen Untersuchungen an einem und demselben Tag und mit gleichem Komplement, Blutkörperchen und Herzextrakt angestellt wurden, sind die folgenden Versuche mit gleichem Serum an verschiedenen Tagen gemacht worden; die benutzten Reagentien, Komplement, Herzextrakt und Blutemulsion wurden jedesmal neu bereitet. Das Resultat ist aus der nebenstehenden Tabelle abzulesen.

Es ist hieraus ersichtlich, daß die Resultate der zu verschiedenen Zeiten angestellten Untersuchungen im wesentlichen übereinstimmen, doch sind die Abweichungen, wie zu erwarten war, erheblich größer als bei gleichzeitiger Untersuchung. Zu den Fehlern der Methode kommen hier die Schwankungen

Serum No.	Erste Untersuchung						Zweite Untersuchung 5 Tage nach der ersten						Dritte Untersuchung 10 Tage nach der ersten					
	0,2 cem	0,1 cem	0,05 cem	0,025 cem	0,012 cem	0,006 cem	0,2 cem	0,1 cem	0,05 cem	0,025 cem	0,012 cem	0,006 cem	0,2 cem	0,1 cem	0,05 cem	0,025 cem	0,012 cem	0,006 cem
1	0	0	0	20	80	100	0	0	0	40	100	100	0	0	0	60	100	100
2	0	0	0	10	70	100	0	0	0	50	100	100	0	0	0	20	90	100
3	25	70	100	—	—	—	0	50	90	100	—	—	0	60	90	100	—	—
4	50	100	—	—	—	—	40	80	—	—	—	—	70	100	—	—	—	—
5	0	0	45	90	100	—	0	0	70	100	—	—	0	70	100	—	—	—
6	10	55	100	—	—	—	0	45	90	100	—	—	0	35	70	100	—	—
7	0	0	40	90	—	—	0	0	60	100	—	—	0	20	80	100	—	—
8	35	100	100	—	—	—	40	90	100	—	—	—	50	100	100	—	—	—
9	0	80	100	—	—	—	0	70	90	—	—	—	0	80	100	—	—	—
10	0	0	80	—	—	—	0	25	100	—	—	—	0	50	90	—	—	—
11	0	25	100	—	—	—	0	60	90	—	—	—	0	30	90	—	—	—
12	0	0	0	0	20	80	0	0	0	0	10	80	0	0	0	0	60	100
13	0	0	50	100	—	—	0	0	90	100	—	—	0	20	90	100	—	—
14	0	0	0	80	100	—	0	0	30	90	100	—	0	0	60	100	—	—
15	0	0	0	80	100	—	0	0	0	80	100	—	0	0	0	60	100	—
16	0	0	0	0	30	80	0	0	0	0	20	70	0	0	0	60	80	100
17	0	0	0	10	80	100	0	0	10	80	100	—	0	0	20	80	100	—
18	0	0	0	10	90	100	0	0	0	20	—	—	0	0	0	60	—	—
19	0	0	0	70	100	—	0	0	20	90	100	—	0	0	60	100	—	—
20	0	0	0	30	80	—	0	0	0	35	100	—	0	0	0	20	80	100
21	0	0	60	100	—	—	0	18	90	100	—	—	0	40	100	—	—	—
22	0	8	90	100	—	—	12	80	100	—	—	—	30	90	100	—	—	—
23	0	0	16	80	—	—	0	0	10	80	—	—	0	0	20	80	—	—
24	0	0	8	70	—	—	0	0	14	70	—	—	0	0	12	70	—	—
25	0	0	20	80	—	—	0	18	90	100	—	—	0	20	90	100	—	—
26	20	50	90	—	—	—	0	20	80	100	—	—	0	50	90	100	—	—
27	0	0	10	70	—	—	0	0	10	70	—	—	0	0	30	80	—	—
28	12	20	90	100	—	—	10	16	90	100	—	—	12	30	90	100	—	—
29	20	80	100	100	—	—	0	70	100	—	—	—	40	70	100	—	—	—
30	25	90	100	—	—	—	70	90	100	—	—	—	50	90	100	—	—	—

hinzu, die in Veränderungen in den aufbewahrten Seris begründet sind. Obwohl diese innerhalb eines Zeitraumes von 8—14 Tagen nicht sehr beträchtlich sind, wenn die Serumproben im Dunkeln und im Eiskeller aufbewahrt werden, so empfiehlt es sich doch, daß die Proben möglichst bald nach der Blutentnahme bearbeitet werden.

Zusammenfassung.

Die Arbeit gibt eine Darstellung der im Statens Serum-institut angewandten quantitativen Technik zur Ausführung der Wassermannschen Reaktion sowie der Untersuchungen, die ihr zugrunde liegen.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie
und dem Staatl. Serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand:
Hofrat Prof. R. Paltauf).]

Ueber die Giftigkeit heterologer Sera und Kriterien der Anaphylaxie.

Von **A. Biedl** und **R. Kraus**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Juni 1910.)

In unseren experimentellen Studien über Anaphylaxie gingen wir in erster Linie darauf aus, das Vergiftungsbild im anaphylaktischen Shock nach toxikologischen Prinzipien zu analysieren, um den Charakter dieser eigenartigen Vergiftung festzustellen.

Wie bekannt, gelang es zunächst, den Nachweis zu führen, daß beim Hunde im Vordergrund der Symptome eine wohlcharakterisierte Blutdrucksenkung steht. Beim Meerschweinchen konnten Auer und Lewis, sowie auch wir die Vergiftungserscheinungen und den Tod auf einen **Bronchospasmus** mit konsekutiver Lungenblähung und Starrheit zurückführen.

Durch diese Arbeiten sind Kriterien geschaffen worden, welche für die Beurteilung der anaphylaktischen Vergiftung maßgebend sein müssen. Auf der diesjährigen Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie¹⁾ haben wir auf Grund dieser experimentell erhobenen Befunde die Forderung aufgestellt, als anaphylaktische Vergiftung nur diejenige zu bezeichnen, welche die beschriebenen, durch die klinische Beobachtung und den Sektionsbefund leicht nachweisbaren Erscheinungen aufweist.

Auf Grund eigener Versuche haben wir weiter das von Friedberger gewonnene Gift als „das Anaphylatoxin“ anzuerkennen abgelehnt. Denn wir haben bei genauer Einhaltung seiner Darstellungsmethode durch intravenöse Injektion dieser Substanz wohl den Tod der Tiere herbeiführen können, doch die Charakteristika der Anaphylaxie vermißt. Friedberger demonstrierte am Tage nach unserem Vortrag

1) Diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, Heft 1/2.

Meerschweinchen, welche mit seinem Anaphylatoxin vergiftet eine Lungenblähung aufwiesen. Da wir in den Versuchen mit dem „Anaphylatoxin“ dem anatomischen Befund weniger Aufmerksamkeit geschenkt haben, mußten zur Aufklärung weitere Untersuchungen unternommen werden, über welche im folgenden berichtet werden soll.

Das nach Angaben Friedbergers aus frischem Rinderserum hergestellte Gift wirkt, wie wir auch schon früher gesehen haben, auf Meerschweinchen tatsächlich tödlich. Die Tiere gehen nach einigen Minuten unter den Erscheinungen einer akuten Erstickung zugrunde. Doch war im Gegensatz zur Anaphylaxie die künstliche Atmung stets möglich. Die Lungen konnten rhythmisch ausgedehnt und ausgesaugt werden, wenn auch die Volumschwankungen der Lunge sich nicht auf das ganze Organ gleichmäßig erstreckten und einzelne Partien unbeweglich blieben. Bei hinreichender frühzeitiger künstlicher Respiration war es in einzelnen Fällen möglich, die Tiere bis zum Wiederauftreten spontaner Atmung zu bringen.

1. Versuch.

7,5 Präzipitin (Kaninchenserum) + 75 frisches Rinderserum (1:50). 1 Std. bei 37° über Nacht im Eisschrank, zentrifugiert, gewaschen. Der Bodensatz versetzt mit 2 ccm frischen Meerschweinchenserums, 12 Std. bei Zimmertemperatur, zentrifugiert, obere Flüssigkeit intravenös injiziert, Meerschweinchen zeigt nach einigen Minuten Krämpfe, Respirationsstillstand — künstliche Atmung gelingt.

2. Versuch.

7,5 Präzipitin (Kaninchenserum) + 75 Menschenserum (1:50), ebenso behandelt.

2 ccm Extrakt intravenös injiziert Meerschweinchen. Nach einigen Minuten Krämpfe, Aussetzen der Atmung — bei künstlicher Atmung atmet das Tier — Spontanatmung aufgehört — bei künstlicher Atmung atmet die Lunge, Lungenödem.

In jenen Fällen, in welchen die Tiere zugrunde gingen, waren einigemal in dem bei der sofortigen Sektion stillstehend gefundenen rechten Herzen frische Gerinnsel anzutreffen. Der Lungenbefund zeigte neben einer mehr oder weniger deutlichen Vergrößerung des Volumens ein ausgedehntes **Lungenödem** und Zeichen hochgradiger **Hyperämie**. Für die anaphylaktische Lunge ist im Gegensatz hierzu die Blässe und

die hochgradige Blähung charakteristisch, während Lungenödem äußerst selten und dann nur kaum angedeutet vorhanden sein kann.

Das gleiche Resultat erhielten wir, wenn zur Darstellung des Friedbergerschen Giftes statt Rinderserum frisches Menschenserum genommen wurde. Auch in diesem Falle ließ sich die Lunge der vergifteten Tiere zumeist künstlich atmen und in jenen Fällen, in welchen die Aufblasung der Lunge nicht genügend gelingen konnte, war in einer schaumigen, blutig tingierten Flüssigkeitsansammlung in der Trachealkanüle eine genügende Erklärung hierfür gegeben. Die Sektion ergab in der mäßig geblähten Lunge ein hochgradiges Oedem.

Nach der Friedbergerschen Präzipitintheorie mußten aber auch aus solchen Seris Präzipitate bzw. das Anaphylatoxin zu gewinnen sein, welche an sich ungiftig sind. Wir haben nun statt Rinder- und Meerschweinchenserum, welche nach unseren Erfahrungen in Mengen von 0,5—2,0 bei der intravenösen Injektion Meerschweinchen töten, ein frisches Pferdeserum, welches selbst in größeren Dosen ungiftig ist, zur Darstellung des „Anaphylatoxins“ verwendet. Das aus Pferdeserum gewonnene „Anaphylatoxin“ war für Meerschweinchen völlig wirkungslos (auch das Präzipitat hatte keine Wirkungen).

Unter der Voraussetzung, daß die toxische Wirkung der Extrakte aus dem Präzipitate i. e. „des Anaphylatoxins Friedbergers“ nur von der primären Giftigkeit der verwendeten Serumarten abhängig sei, haben wir versucht, Rinderserum durch Stehenlassen in seiner Giftigkeit abzuschwächen. Es ließ sich tatsächlich nachweisen, daß das ursprünglich in Mengen von 0,5 tödliche Serum nach einigen Tagen selbst in Mengen von 2,0 ccm ungiftig geworden war. Dementsprechend erwies sich auch der Präzipitatextrakt (nach Friedberger dargestellt) als wirkungslos.

Diese Versuche zeigen also, daß das sogenannte Anaphylatoxin Friedbergers nicht erst aus der Verbindung Eiweiß-Antieiweiß durch Vermittlung des normalen Meerschweinchenserums entstanden sein könnte, sondern seine Wirkung der primären Giftigkeit mancher frischer Sera (Rind, Mensch) verdankt.

Auf der Friedbergerschen Theorie fußend, wurde dann weiter die toxische Wirkung heterologer normaler Sera als ein spezieller Fall der Anaphylaxie hingestellt. Gegen diese Generalisierung haben wir bereits in unserem Vortrage Einspruch erhoben und darauf hingewiesen, daß die Toxizität heterologer Sera zum Teile auf ihre hämolytische Komponente zurückgeführt werden könnte.

In Fortsetzung dieser Versuche haben wir die durch frisches Rinderserum hervorgerufene Vergiftung einer näheren Analyse unterzogen.

Die Lungen solcher akut zugrunde gegangenen Tiere sind tatsächlich, wie Friedberger und Doerr angeben, vergrößert, doch ist der Unterschied gegenüber einer anaphylaktischen Lunge ein auffälliger. Die ungleichmäßig geblähte Lunge ist fleckigrot, hyperämisch und zeigt mehr oder weniger ausgesprochenes Lungenödem¹⁾.

Bei den mikroskopischen Untersuchungen lassen sich diese Differenzen noch genauer feststellen²⁾.

Aber nicht nur anatomisch kann die durch Rinderserum erzeugte Lungenveränderung von der anaphylaktischen unterschieden werden, auch die experimentelle Analyse differenziert die Vergiftung. Die mit Rinderserum vergifteten Tiere lassen sich, wenn die Atmung ausgesetzt hat, künstlich atmen und können eventuell gerettet werden.

Weiter sei noch hervorgehoben, daß das Herz bei der anaphylaktischen Vergiftung, wenn schon Lungenblähung eingetreten ist, noch eine Zeitlang fortschlägt, wogegen bei der Rinderserumvergiftung auch das Herz gleichzeitig geschädigt wird (sehr häufig findet man Coagula im rechten Herzen).

Um diese Analyse zu vervollständigen, wurde noch die Wirkung des Atropins bei der Rinderserumvergiftung geprüft. Auer und Lewis haben gezeigt, daß das Atropin imstande ist, die anaphylaktische Vergiftung zu verhindern und den Bronchospasmus aufzuheben, was auch wir bestätigen konnten.

1) Das makroskopische Aussehen der Lunge ist verschieden, je nach der verwendeten Menge des giftigen Serums. Man findet blaßrote Lungen mit zahlreichen Blutpunkten an der Pleura und auch solche, die dunkelrot oder fleckig sind und größere Blutungen aufweisen.

2) Ueber diese Veränderungen wird demnächst ausführlich berichtet werden.

Das Atropin vermag, mit Rinderserum gemischt, die giftige Wirkung nicht zu paralysieren. Ist aber in einzelnen Versuchen die Atropinserummischung ungiftig gewesen, so konnten wir durch Kontrollversuche mit Kochsalzlösung in der Verdünnung des Serums die Ursache dafür finden. Bei getrennter präventiver Injektion des Atropins 0,01 wirkt das nachträglich injizierte Serum ungeschwächt tödlich.

Und auch folgende Versuche beweisen die Unwirksamkeit des Atropins gegenüber der Rinderserumvergiftung.

1. Versuch.

Curarisiertes Tier, künstliche Atmung — Beobachtung der Lunge nach Injektion von 1,0 Rindersera fast momentaner Stillstand des Herzens in der Diastole — Lunge stark gerötet, zeigt unveränderte Volumschwankungen, die erst später geringer werden und völlig aufhören. Atropininjektion ohne Erfolg — hochgradiges Lungenödem.

2. Versuch.

Nach der Injektion stark arhythmische Herztätigkeit, einzelne Partien der Lunge zeigen keine Volumschwankungen. In der Trachea schaumige Flüssigkeit. — Die Lungenblähung nimmt zu. — Injektion von 0,01 Atropin bei gutem Herzschlag ohne Wirkung auf die Lungenexkursion.

Es läßt sich also **anatomisch** und auch **experimentell** die Vergiftung mit Rinderserum wohl differenzieren gegenüber der anaphylaktischen. Wir können demnach mit Sicherheit behaupten, daß auch diese Vergiftung keine anaphylaktische sein kann. Welcher Art diese in normalem Sera enthaltenen Gifte sind, konnten wir bisher nicht entscheiden. Loeb, Strickler und Tuttle (Virch. Arch., Bd. 201) finden, daß nach intravenöser Injektion artfremder Sera (Hunde-, Rinderserum) der Tod durch Verstopfung der Lungengefäße durch Fibrinpfröpfe oder durch Haufen von agglutinierenden Erythrocyten stattfindet. In eigenen Versuchen konnten Kraus und Amiradžibi ermitteln, daß die Giftigkeit des Serums mit der hämolytischen Eigenschaft nicht identisch sein dürfte. Uhlenbuth und Haendel fanden, daß auch die nekrotisierende Eigenschaft mit dem Hämolysin nicht Hand in Hand geht.

Die gleiche Argumentation und Beweisführung gilt auch der Giftigkeit des heterologen Immunserums. Friedberger will ja auch die Giftigkeit gewisser Immunsera

(Kaninchenhammelserum), die eine besondere Giftigkeit besitzen, auf ein anaphylaktisches Gift zurückführen. Um Wiederholungen zu vermeiden, wollen wir zusammenfassend berichten, daß auch die Vergiftung mit diesen Seris mit der anaphylaktischen nichts zu tun hat¹⁾. Alle die mit Rinderserum erhobenen anatomischen Befunde und experimentellen Resultate konnten wir bei der Vergiftung mit Kaninchenhammelserum an Meerschweinchen wiederfinden. Es ist wahrscheinlich, daß die Giftigkeit dieser Sera und des Friedbergerschen „Anaphylatoxins“ mit derjenigen des frischen Rinderserums identisch sein dürfte.

Zusammenfassung.

Weder das sogenannte Anaphylaxietoxin Friedbergers, noch die Gifte des frischen Rinder-, Menschenserums und Kaninchenhammelserums erzeugen Anaphylaxie. Diese Gifte sind nicht imstande, Bronchospasmus zu erzeugen (Meerschweinchen), sondern führen infolge Lungenödems zu einer Vergrößerung der Lungen. Aus ungiftigem Serum (Pferdeserum) läßt sich nach der Methode Friedbergers kein Anaphylatoxin gewinnen. Das ungiftig gewordene Rinderserum liefert kein Anaphylatoxin.

Die Giftigkeit dieser Sera beruht wahrscheinlich auf einer Alteration der Gerinnungsfähigkeit des Blutes, Verklumpung roter Blutkörperchen und auf Thrombenbildungen in den Lungengefäßen (Loeb, Strickler und Tuttle).

1) Die Giftigkeit der Immunsera hängt wesentlich von dem zur Immunisierung verwendeten Antigen ab. Auf Grund neuer Versuche (Kraus) ist beispielsweise Kaninchen-Pferdeserum trotz seines Gehaltes an Präzipitin nicht stärker giftig als normales Kaninchenserum. Mit dem Präzipitingehalt der Immunsera kann die erhöhte Giftigkeit sicher nicht in Zusammenhang gebracht werden. Nach den bisherigen Versuchen dürfte die Giftigkeitszunahme des Kaninchenserums davon abhängig sein, ob zur Vorbehandlung ein primär giftiges oder ungiftiges Serum verwendet wurde. Hammel-Rinderserum erhöhen die Giftigkeit des Kaninchenserums, Pferdeserum aber nicht. Ueber diese Versuche soll demnächst berichtet werden.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor:
Dr. Th. Madsen).]

Untersuchungen über Komplementbindung mit dem Serum Aussätziger.

Von

Oluf Thomsen,
Abteilungsvorsteher am
Statens Seruminstitut.

und

S. Bjarnhjedinson,
Oberarzt am Leprahospital
zu Reykjavik (Island).

(Eingegangen bei der Redaktion am 22. Juni 1910.)

Seit Eitner (5) im Jahre 1906 von seinem ersten Leprafall Mitteilung machte, bei dem das Serum des Patienten in Verbindung mit dem Extrakt eines Lepraknötchens eine Komplementbindungsreaktion ergab, haben verschiedene Verfasser [Wechselmann und Meyer (19), Slatinéanu und Daniélopolu (16—17), Meier und Bauer (2), Gaucher und Abrami (10), Bruck und Gessner (3), Frugoni und Pisani (9), Eliasberg (7), Ehlers und Bourret (4), Jundell, Åkerberg, Almkvist und Sandmann (1, 12), Nogouchi (13), Sugai (18) und mehrere andere] sich mit ähnlichen Untersuchungen beschäftigt, ohne jedoch die Sache völlig aufgeklärt zu haben; vielmehr wird man sagen dürfen, daß die nicht übereinstimmenden Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungen eine gewisse Unsicherheit verursacht haben, nicht bloß betreffs der Deutung der vorgelegten Resultate, sondern auch betreffs der Richtigkeit der Resultate selbst.

Eitner schien in seiner ersten Mitteilung geneigt, die gefundene Komplementbindung als eine spezifische Reaktion der Leprabacillen in dem leprösen Gewebe und der Lepraantikörper in dem Serum des Patienten aufzufassen, analog der Wassermannschen Reaktion, die 1906 von den meisten ebenfalls als eine spezifische Antigen-Antikörperreaktion angesehen wurde. Indessen haben neuere Untersuchungen es wahrscheinlich gemacht, daß es bei der Lepra jedenfalls eine Komplementbindung gibt, welche mit der bei der Syphilis gefundenen (Wassermannschen Reaktion) analog (identisch?) ist und auf der Fixation des Komplementes an die Verbindung von lipoiden Stoffen in den benutzten Extrakten und lipoidophilen Substanzen in dem Blut des Patienten beruht. Ob es daneben eine spezifische Komplementbindung durch die Verbindung Bacillus-Antikörper gibt, bleibt — wie bei der Syphilis — vorerst unentschieden.

Ueber die Erscheinung selbst, die Häufigkeit der Komplementbindung, sind die Angaben der Verfasser, die eine größere Anzahl von Patienten untersucht haben, recht verschieden. Slatinéanu und Daniélopou (16) haben z. B. bei 24 von 26 Patienten eine positive Reaktion gefunden, eine ähnlich große Zahl fanden Gaucher und Abrami (10), Ehlers und Bourret (4); Jundell, Almkvist und Sandmann (12) dagegen fanden eine positive Reaktion nur bei 8 unter 26 Patienten. In einer späteren Arbeit von Åkerberg, Almkvist und Jundell (1) wurden unter 14 nicht früher untersuchten Leprapatienten nur 2 gefunden, welche positiv reagierten.

Was die verschiedenen Formen der Lepra betrifft, so geben die meisten Verfasser an, die tuberoso Form ergebe weit häufiger eine positive Reaktion als die anästhetische. Jedoch herrscht auch in diesem Punkte keine Einigkeit. Ehlers und Bourret (4) fanden z. B., daß die Form der Krankheit (Lepra tuberosa, mixta oder anaesthetica) „ohne irgendwelche determinierende Bedeutung“ für den Ausfall der Komplementbindungsreaktion ist; von ihren 47 Patienten ergaben 45 positive Reaktion und unter diesen 45 waren 27 Patienten mit anästhetischer Lepra. Jedoch ist zu bemerken, daß die Reaktion nur bei 4 (2 anästhetischen, 1 tuberoso und 1 zweifelhaften) von den Patienten Ehlers und Bourrets (4) komplett (die Hämolysehemmung total) war; bei all den übrigen war die Komplementbindung nur partiell.

Die Technik war bei den bisher veröffentlichten Untersuchungen recht verschiedenartig und ist unzweifelhaft die Hauptursache der gefundenen Verschiedenheiten. Eine sehr bedeutsame Fehlerquelle, die Eigenhemmung der verwendeten Sera, ist häufig nicht nach Gebühr berücksichtigt worden. Zwar ist von mehreren Untersuchern erwähnt worden, daß eine solche Eigenhemmung besteht, aber Åkerberg, Almkvist und Jundell (1) haben sich in ihrer neuesten Arbeit zuerst eingehender damit beschäftigt und sind geneigt, mehrere der früher als positiv gedeuteten Reaktionen nunmehr als falsche, nur durch das Serum der Patienten und ohne Mitwirkung des „Antigens“ entstandene Hemmungen aufzufassen. Dazu kommt der Umstand, daß bei einigen der Patienten Syphilis nicht wohl als ausgeschlossen gelten konnte, wie z. B. Ehlers und Bourret (4) es hervorheben. In dem ersten von Eitner (5) mitgeteilten Fall positiver Komplementbindung bei Lepra hatte der Patient höchst wahrscheinlich zugleich die Syphilis.

Wir haben daher gemeint, es würde nicht ohne Interesse sein, eine Untersuchung der Aussätzigen auf Island zu unter-

nehmen, wo die Syphilis eine sehr selten anzutreffende Krankheit ist. Dieser Umstand in Verbindung mit dem Ergebnis einer genauen, anamnestischen und objektiven Untersuchung der Patienten läßt es als sehr wenig wahrscheinlich erscheinen, daß irgendeiner unter ihnen syphilitisch war. Wir waren ferner bestrebt, eine Technik anzuwenden, welche einerseits alle Anlässe zu Fehlern berücksichtigte, andererseits aber so fein abgestimmt war, daß auch schwache Komplementbindungsreaktionen sich geltend machen mußten.

Unser Material umfaßt 50 Patienten, bis auf zwei sämtlich in dem Leprahospital zu Reykjavik internierte Leprakranke.

Mit einer einzigen Ausnahme wurde diesen Patienten zweimal Blut zur Untersuchung entnommen, und zwar mit je 5—17-wöchigem Zwischenraum zwischen den Proben. Das Blut wurde steril durch Venenpunktur entnommen und sofort mit einem schnellfahrenden Schiff an das Seruminstitut in Kopenhagen versandt, wo die Untersuchung am Tage der Ankunft oder tags darauf stattfand. Während des Versandes wurden die Gläser, die das Blut enthielten, im Dunkeln und auf Eis aufbewahrt. Die von der Blutentnahme bis zur Ankunft im Seruminstitut verstrichene Zeit betrug etwa 10 Tage. Alle Blutproben waren bei der Ankunft gut koaguliert, das Serum vollkommen klar, nicht hämoglobinfarbig.

Was die Untersuchungstechnik selbst angeht, so haben wir das im Institut allgemein angewandte und an anderem Orte¹⁾ eingehend beschriebene Verfahren genau befolgt. Es soll daher an dieser Stelle bloß folgendes hervorgehoben werden: Alle die Untersuchungen, deren Resultate in der Tabelle I verzeichnet sind, wurden mit alkoholischem Extrakt aus Menschenherz (Menge 0,2 ccm) vorgenommen. Als hämolytisches System wurde verwandt: Schafblut, Immunambozeptor von Kaninchen und Meer-schweinchenkomplement. Die Menge des Krankenserums, die gebraucht wurde, war für jeden Patienten 0,2, 0,1 und 0,05 ccm, und, sofern mit 0,05 ccm noch eine totale Hämolysenhemmung eintrat, 0,025 ccm usw. (absteigend bis zur Hälfte der jedesmal voraufgehenden Menge), bis die Hämolysenhemmung partiell wurde oder ganz aufhörte. Das gesamte Volumen der Flüssigkeit in jedem Glas wurde mit 0,9-proz. NaCl-Lösung auf 5 ccm gebracht²⁾. Der Grad der Hämolysen wurde kolorimetrisch festgestellt. Die Ziffer 0 bezeichnet also die totale Hemmung, die Ziffer 100 die totale Hämolysen, die dazwischen liegenden Zahlen alle Stärkegrade der Reaktion. Die Grenze für schwächste Reaktion ist bei der Hämolysen 60 mit 0,2 ccm Serum des Kranken angesetzt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, 1910.

2) Wo mit dem Serum sparsam umgegangen werden mußte, wurden von allem nur halbe Mengen gebraucht (Volumen 2,5 ccm).

Tabelle I.

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° inaktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolysen in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolysen in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
10	56 Jahre O. G.	Ausbruch der Krankheit vor 14 Jahren mit großen roten, infiltrierten Flecken an den Extremitäten und im Gesicht, bald darauf Neuralgien und Anästhesien. Gleichmäßiges Fortschreiten der Krankheit, am stärksten in den letzten Jahren. Jährlich mehrere Fieberanfälle mit Ausbruch von Flecken	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
21	65 Jahre O. E.	Ausbruch der Krankheit vor ca. 20 Jahren mit anästhetischen Partien. Gleichmäßiges Fortschreiten der Krankheit. St. pr.: Ausgedehnte Anästhesien. Doppelseitiger Lagophthalmus und Keratitis. Facialisparalyse an der linken Seite. Starke Muskelatrophie und Kontrakturen	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
27	56 Jahre M. P.	Ausbruch der Krankheit vor 16 Jahren mit Neuralgien, Anästhesien und fleckförmigem Exanthem. In den letzten Jahren starkes Zunehmen der Krankheit. St. pr.: Am Truncus große rote Flecke, alle mehr oder weniger anästhetisch. Lagophthalmus, Keratitis, fast blind. Ausgedehnte Anästhesien. Muskelatrophie.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—
28	60 Jahre O. O.	Ausbruch der Krankheit vor 18 Jahren mit roten, elevierten, anästhetischen Flecken und Neuralgien. Gleichmäßiges Fortschreiten der Krankheit. St. pr.: Paralyse der Gesichtsmuskeln. Lagophthalmus. Starke Muskelatrophie. Anästhesien. Nervenverdickungen	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. IX. 09	90	100	100	—	—	—
37	55 Jahre V.S.E.	Ausbruch der Krankheit vor 24 Jahren mit Anästhesie in linker Hand. Einige Jahre später ausgedehnte Anästhesien, Mal perforant am linken Fuß. St. pr.: Starke Muskelatrophie. Kontrakturen. Ausgedehnte Anästhesie. Nervenverdickungen	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—

Lepra anaesthetica

Lepra anaesthetica

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° inaktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
51	26 Jahre P. H.	Ausbruch der Krankheit vor 16 Jahren mit rötlichblauen Flecken an den Extremitäten. In den folgenden Jahren neue Flecke. Analgesien. St. pr.: Erhebliche Muskelatrophie. Anästhesien	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
52	27 Jahre S.K.P.	Ausbruch der Krankheit vor 19 Jahren mit braunen, anästhetischen Flecken an den Extremitäten. Wenige Jahre später Anästhesie und Kontrakturen der Finger. Pemphigus. St. pr.: Linksseitige Facialisparalyse. Lagophthalmus. Anästhesien. Muskelatrophie. Kontrakturen	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
68	53 Jahre G. R.	Ausbruch der Krankheit vor 14 bis 15 Jahren mit Anästhesien und Neuralgien an den Extremitäten, später Flecke im Gesicht und am Truncus, Wunden an der Fußsohle, Panaritien. Zunehmende Anästhesien. St. pr.: Erythem an der Stirn. Kontrakturen. Ausgedehnte Anästhesien. Muskelatrophie. Mal perforant an beiden Füßen	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—
74	66 Jahre G. J.	Ausbruch der Krankheit vor 36 Jahren mit Neuralgien und Anästhesien und Wunden an den anästhetischen Stellen. Die Krankheit ist gleichmäßig fortgeschritten, stark mutilierend, in den letzten 10 Jahren ziemlich stationär	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—
85	41 Jahre J. J.	Ausbruch der Krankheit vor 11 Jahren mit Parästhesie und Anästhesie in Händen und Füßen. Die Krankheit ist ziemlich unverändert verblieben. St. pr.: Etwas Anästhesie an den Extremitäten. Muskelatrophie. Nervenverdickungen	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
88	68 Jahre A. T.	Ausbruch der Krankheit vor ca. 10 Jahren, gleimäßig fortschreitend. St. pr.: Anästhesien. Maculae. Muskelatrophien. Mutilationen	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—

Leprosy anaesthetica

Lepra anaesthetica

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° in- aktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alko- holisch) + Patientenserum. ccm:							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alko- holisch) + Patientenserum. ccm:					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
91	75 Jahre A. A.	Ausbruch der Krankheit vor 11 Jahren mit Oedemen an Händen und Füßen, dann Atro- phie der Muskulatur der Hände und Kontraktur der Finger. Anästhesien. Mal perforant. St. pr.: Kontrakturen der Hände und Füße. Starke Muskelatrophie. Anästhesien an Armen und Beinen. Nervenverdickungen.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—							
			1. II. 10	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
93	54 Jahre K. G.	Ausbruch der Krankheit vor 22 Jahren mit Pemphigus an den Armen. Neuralgien. Zunehmende Anästhesien. St. pr.: Parese der Gesichtsmuskulatur. Lagophthal- mus. Keratitis. Anästhesie. Kon- trakturen. Muskelatrophie. Große rötlichbraune Flecken an Extre- mitäten und Truncus.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—
			1. II. 10	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
95	51 Jahre S. S.	Ausbruch der Krankheit vor 39 Jahren mit roten, elevierten Flecken an den Armen. Einige Jahre später Wunden an den Füßen mit Heraustreten der Knochen. Unveränderter Zustand in den letzten 10 Jahren. St. pr.: Muskelatrophien, Kontrakturen, Anästhesien. Mal perforant in beiden Füßen.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
110	47 Jahre H. B.	Ausbruch der Krankheit vor 15 Jahren mit einem anästheti- schen braunen Fleck am rechten Fuß. Später Flecke an den Ex- tremitäten. Allmählich ausge- dehnte Anästhesien. Atrophien, besonders an Händen und Füßen. Mal perforant am rechten Fuß. Nervenverdickungen.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—							
135	69 Jahre B. J.	Ausbruch der Krankheit vor 19 Jahren mit Anästhesie an den Füßen. In den folgenden Jahren starke Neuralgien und Entzün- dung der Füße. Sehkraft all- mählich verloren. St. pr.: Pa- rese der Gesichtsmuskeln. Lag- ophthalmus. Corneae ganz trüb. Ausgedehnte Anästhesien. Kon- trakturen. Pigmentierte Flecke am Truncus.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	0	20	100	—	—	—

Lepra anaesthetica

Lepra anaesthetica

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Adlerlasses	Während 1/2 Std. bei 56° in- aktiviertes Serum						Datum des Adlerlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösenden Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextrakt (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
148	72 Jahre G. J.	Ausbruch der Krankheit vor 23 Jahren mit roten, anästhetischen Flecken an den Extremitäten. Krankheit dann während einiger Jahre stationär, dann wurden die Finger kontrahiert und die Anästhesien weiter ausgedehnt. St. pr.: Lagophthalmus. Keratitis. Paralyse der Stirnmuskeln. Kontrakturen. Ausgedehnte Anästhesien. Pigmentierte Flecke.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
154	57 Jahre E. P.	Anfang der Krankheit vor 18 Jahren als Polyarthritis, gefolgt von Anästhesien. St. pr.: Parese der Gesichtsmuskeln. Muskelatrophie. Kontrakturen. Nervenverdickungen. Tiefe Wunden an beiden Füßen. Rötlichbraune, etwas anästhetische Flecke an den Schenkeln.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
159	60 Jahre J. M.	Ausbruch der Krankheit vor 13 Jahren mit Oedem an den Füßen. Gleichmäßig fortschreitend. St. pr.: Lagophthalmus. Corneaflecken. Kontraktur der Finger. Muskelatrophie. Anästhesie an den Unterextremitäten. Pigmentierte Flecke an den Beinen.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—
39	54 Jahre S. B.	Ausbruch der Krankheit wahrscheinlich vor 30 Jahren mit bläulichen, infiltrierten Flecken an Extremitäten und Gesicht, aus diesen entwickelten sie sich zu Knoten, die ulcerierten. St. pr.: Die meisten Wunden jetzt geheilt; Gesicht stark deformiert. Blindheit. Nur vereinzelte flache Knoten im Gesicht. Trägt seit 11 Jahren Trachealkanüle. Anästhesien an Füßen und Crura.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
44	44 Jahre P. E.	Ausbruch der Krankheit vor 20 Jahren mit Schwellung des Gesichts und der Extremitäten. In den folgenden 8 Jahren zahlreiche Leprome an Gesicht und Zunge, teilweise ulcerierend. Die Krankheit hat während der letzten 12 Jahre anderen Charakter angenommen, indem sie mehr und mehr die Gestalt der Lepra anaesthetica annahm.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—
			1. II. 10	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—
Lepra anaesthetica																
Lepra tubero-anaesthetica																

Lepra anaesthetica

Lepra tubero-anaesthetica

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° inaktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
50	21 Jahre V. G.	Ausbruch der Krankheit vor ca. 12 Jahren mit Anästhesien, denen sich ein Mal perforant anschloß. Nach Verlauf von ca. 5 Jahren begannen Knoten und diffuse Infiltration sich am Gesicht und den Extremitäten zu zeigen. St. pr.: Die Gesichtshaut etwas infiltriert. Kleine Knoten da und dort im Gesicht und auf der Zunge. Infiltrationen an den Oberarmen. Anästhetische Stellen sowohl an den Ober- als den Unterextremitäten.	20. IX. 09	0	20	90	—	—	—							
			1. II. 10	0	60	100	—	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
55	36 Jahre F. A.	Ausbruch der Krankheit vor 19 Jahren mit Neuralgien in den Unterextremitäten und braun pigmentierten Flecken an Schenkeln, Waden und Fußrücken. Einige Jahre später Knoten in den Augenbrauen und an der Stirn. Anästhesien an den Extremitäten. St. pr.: Das Krankheitsbild ist nunmehr ganz in die anästhetische Form übergegangen, restiert nur ein Infiltrat an rech. Testis u. Epididymis.	20. IX. 09	80	90	100	—	—	—	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—
			1. II. 09	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—
109	40 Jahre P. S.	Ausbruch der Krankheit vor 14 bis 15 Jahren mit Knoten an Armen und Beinen, einige ulcerierten, während neue ausbrachen. St. pr.: Rötlichblaue Knoten u. Infiltrate im Gesicht. Perforation des Sept. nasi. Knoten an Zunge, Gaumen u. Schlund. Anästhesien an Fußrücken und Waden, etwas Anästhesie an den Armen.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—
			26. XII. 09	90	100	100	—	—	—	26. XII. 09	90	100	100	—	—	—
116	76 Jahre G. S. F.	Ausbruch der Krankheit vor 17 Jahren mit anästhetisch. Flecken am rechten Handgelenk. Während 5 Jahren war dies das einzige Symptom, dann erschienen Knoten an den Armen und im Gesicht sowie bräunliche Flecke. Die Krankheit hat in den letzten Jahren Fortschritte gemacht. St. pr.: Facies leonina. Zahlreiche Knoten. Region. Anästh. an Ober- u. Unterextremitäten.	20. IX. 09	70	100	100	—	—	—							
			1. II. 10	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—

Lepra tubero-anaesthetica

Lepra tubero-anaesthetica

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° in- aktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
139	48 Jahre K. J.	Ausbruch der Krankheit vor 17 Jahren mit Entzündung am rechten Bein. 4 Jahre später erschienen Knoten, zunehmende Heiserkeit, Husten, Gesicht diffus infiltriert. St. pr.: Zahlreiche Knoten im Gesicht und an den Extremitäten. Anästhesien an Fußrücken und Crura. Starb 10. II. 1910 an Lungentuberkulose.	20. IX. 09	0	0	20	90	—	—	1. II. 10	0	0	60	90	—	—
145	47 Jahre O. G.	Ausbruch der Krankheit vor ca. 19 Jahren mit bräunlichen und bläulich-roten Flecken an rechter Wade; hier entstanden später Wunden, welche heilten und später Anästhesie hinterließen. In den letzten Jahren fanden sich harte Infiltrationen auf beiden Handrücken, welche ulcerierten, jetzt aber geheilt sind. St. pr.: Gesichtshaut infiltriert. Ausgedehnte Anästhesien.	20. IX. 09	30	90	100	—	—	—	20. IX. 09	0	0	20	80	100	—
			1. II. 10	0	70	100	—	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
152	51 Jahre P. J.	Ausbruch der Krankheit vor ca. 8 Jahren mit Neuralgien in den Füßen. Vor 2 Jahren entstanden Knoten hier und da an den Extremitäten. St. pr.: Zahlreiche kleine Knoten im Gesicht. Wunden an Sept. nasi. Zahllose Knoten an den Extremitäten. Anästhesien an Fußrücken und Waden. Nervenverdickungen.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	26. XII. 09	50	80	100	—	—	—
156	22 Jahre V. E. O.	Vor 4 Jahren begannen die Cilien herauszufallen, aber erst vor 1 Jahr entstand nach einem Trauma eine Wunde am rechten Fußrücken, die nicht heilen wollte. St. pr.: Gesichtshaut diffus infiltriert. Am Sept. nasi Wunden mit zahlreichen Leprabacillen. Etwas Anästhesie an Händen und Füßen.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	90	100	100	—	—	—
			6. XII. 10	90	100	100	—	—	—							

Lepa tubero-anaesthetica

Lepra tubero-anaesthetica

Hospitalnummer	Alter Name	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° in- aktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
158	42 Jahre S. K.	Ausbruch der Krankheit wahr- scheinlich vor 3—4 Jahren mit Schmerzen im linken Auge. Bald darauf Infiltrate in den Augenbrauen und Knoten an Händen und Knien. Heiserkeit. St. pr.: Gesicht bläulich-braun gefärbt, mit Infiltrationen. Kno- ten an Zunge und Gaumen. Anästhesie der Füße.	20. IX. 09	0	0	0	40	100	—							
			1. II. 10	30	90	100	—	—	—	1. II. 10	10	70	90	—	—	—
160	54 Jahre A. A.	Ausbruch der Krankheit vor 2 Jahren: flache Knoten am Ab- domen, Waden und Armen. Diese verschwanden und hinter- ließen braunpigment. Flecken. St. pr.: Infiltrat an Unterarmen und Füßen. Anästhesie am untersten Teil der Waden. In- filtrate am Abdomen.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—							
			1. II. 10	80	100	100	—	—	—	1. II. 10	80	100	100	—	—	—
161	56 Jahre S. G.	Ausbruch der Krankheit vor 21 Jahren: bläuliche Flecke und bald darauf Knoten an den Schienbeinen; bald darauf Knoten im Gesicht. St. pr.: Zahlreiche Knoten. Teilweise Anästhesie an Crura.	20. IX. 09	0	0	0	55	—	—							
			1. II. 09	0	0	20	100	—	—	1. II. 10	0	0	0	40	80	—
83	25 Jahre S. G.	Ausbruch der Krankheit vor ca. 10 Jahren als anästhetisch, wurde dann anscheinend geheilt, bis im Sommer 1908 zahlreiche Knoten an den Extremitäten und im Gesicht zu entstehen begannen. Seit 2 Jahren ist die Krankheit im Rückgang be- griffen.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—							
			26. XII. 09	70	90	100	—	—	—	26. XII. 09	0	0	20	80	100	—
100	42 Jahre J. J.	Ausbruch der Krankheit vor 11 Jahren mit Knoten im Gesicht und an den Armen. Die Krank- heit entwickelte sich sehr schnell als ausgesproch. tuberosa Lepra. Der Patient starb am 20. I. 10. Sektion: Degen. amyloid. re- num, laryngitis leprosa, pneu- monia dextr.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—							
			26. XII. 09	80	100	100	—	—	—	26. XII. 09	0	60	100	—	—	—

Lepra tubero-anaesthetica.

Lepra tuberosa.

Lepra tubero-anaesthetica.

Lepra tuberosa.

Hospitalnummer	Name Alter	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° inaktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolyseziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolyseziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
103	27 Jahre H. J. J.	Ausbruch der Krankheit vor 12 Jahren mit Flecken an den Beinen. Etwas später Knoten auf der Stirn. Die Krankheit entwickelte sich gleichmäßig mit starker Infiltration der Gesichtshaut und der Extremitäten. Große Ulcerationen. Während des letzten Jahres hat die Größe und Zahl der Knoten abgenommen.	20. IX. 09 1. II. 10	0	0	0	0	0	70	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
106	45 Jahre P. S.	Ausbruch der Krankheit vor 11 Jahren mit Knoten in den Augenbrauen und braunen pigmentierten Flecken im Gesicht und an den Extremitäten. Später Leprome an Cornea und Sclera. Die Krankheit war sehr heftig, hat in dem letzten Jahr etwas nachgelassen.	20. IX. 09 1. II. 10	80	90	100	—	—	—	1. II. 10	0	0	60	100	—	—
111	43 Jahre J. J.	Ausbruch der Krankheit vor 10 Jahren mit Knoten im Gesicht. Während der ersten 4—5 Jahre häufige Eruptionsanfälle mit hohem Fieber. Während der letzten 5 Jahre war der Zustand weit besser, die Knoten sind zum großen Teil verschwunden.	20. IX. 09 26. XII. 09	90	100	100	—	—	—	26. XII. 09	60	80	100	—	—	—
113	49 Jahre G. G.	Ausbruch der Krankheit vor 14 Jahren mit Knoten und Infiltraten. St. pr.: Infiltrate im Gesicht, stark pigmentiert. An den Extremitäten zahlreiche Knoten und Infiltrate. Noch immer häufig neue Eruptionen.	20. IX. 09 1. II. 10	80	90	100	—	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
115	54 Jahre G. J.	Ausbruch der Krankheit vor 8 Jahren, eher früher. Zuerst Knoten am einen Handgelenk und der Stirn. Während der letzten 7 Jahre war die Krankheit ziemlich stationär. St. pr.: Haut des Gesichts infiltriert, rotbraun. Zahlreiche kleine Knoten an den Extremitäten.	20. IX. 09 26. XII. 09	70	100	100	—	—	—	20. IX. 09 26. XII. 09	0	0	0	60	80	—

Lepra tuberosa.

Lepra tuberosa.

Hospitalnummer	Name Alter	Verlauf der Krankheit	Datum des Aderlasses	Während 1/2 Std. bei 56° inaktiviertes Serum						Datum des Aderlasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kompensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alkoholisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
118	35 Jahre A. J.	Ausbruch der Krankheit vor 9 Jahren als ein Infiltrat an der linken Backe, bald darauf braune Flecken und Knoten im Gesicht und an den Extremitäten. Der Zustand hat sich seitdem verschlimmert. St. pr.: Starke Infiltration im Gesicht, zahlreiche Knoten an den Extremitäten.	20. XI. 09 1. II. 10	0	0	20	90	100	—	20. IX. 09 1. II. 10	0	0	0	20	70	—
120	45 Jahre G. B.	Ausbruch der Krankheit vor 9—10 Jahren mit fester Infiltration um die Fußgelenke. Während der ersten 4 Jahre sehr schwere Erkrankung, seither etwas nachlassend. St. pr.: Infiltration und Knoten an Stirn, Backen und Kinn sowie in den Fauces, desgleichen ebenso an den Extremitäten.	20. IX. 09 26. XII. 09	90	100	100	—	—	—	20. IX. 09 26. XII. 09	0	0	16	70	—	—
125	31 Jahre M. G.	Ausbruch der Krankheit vor 8 Jahren mit braunen Flecken an den Extremitäten und Infiltrationen auf der Stirn. Der Zustand verschlimmerte sich schnell. Häufige febrile Eruptionsanfälle. St. pr.: Reste der Infiltrationen auf der Stirn und an den Extremitäten.	20. IX. 09 1. II. 10	0	10	80	100	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
131	26 Jahre F. V.	Ausbruch der Krankheit vor 7 Jahren, gleichmäßig fortschreitend. St. pr.: Knoten auf der Stirn und rechten Backe sowie an den Extremitäten.	20. IX. 09 1. II. 10	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
132	26 Jahre R. J. S.	Ausbruch der Krankheit vor 8 Jahren mit Infiltrationen in den Augenbrauen. Wenige Monate später Knoten an den Extremitäten. Die Krankheit verschlimmerte sich schnell. St. pr.: Viele Knoten in Gesicht und an den Extremitäten. Zahlreiche Narben von Ulcerationen.	26. IX. 09 26. XII. 09	80	100	100	—	—	—	26. XII. 09	0	10	60	—	—	—

Lepra tuberosa.

Lepra tuberosa.

Hospitalnummer	Name Alter	Verlauf der Krankheit	Datum des Adelasses	Während 1/2 Std. bei 560 in- aktiviertes Serum						Datum des Adelasses	Nicht inaktiviertes Serum					
				Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :							Hämolysenziffer, gibt die Hämolyse in Prozenten an bei Verwendung der kom- pensierten, geringsten total lösend. Komplementmenge + 0,2 ccm Herzextr. (alko- holisch) + Patientenserum. ccm :					
				0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006		0,2	0,1	0,05	0,025	0,012	0,006
134	40 Jahre H. E.	Ausbruch der Krankheit vor 8 Jahren mit einigen Knoten an der Stirn, welche schnell größer wurden. In dem folgenden Jahr viele neue Knoten. Seitdem hat sich der Zustand erheblich verschlimmert. St. pr.: Zahlreiche ulcerierende Knoten im Gesicht, an Zunge und Gaumen. Infiltrate und Knoten an den Extremitäten.	20. IX. 09	0	0	0	0	0	70							
			1. II. 10	25	10	25	0	10	70	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
138	30 Jahre P. A.	Ausbruch der Krankheit vor 6 Jahren mit Knoten im Gesicht und an den Armen. Sehr rapider Verlauf. Häufige Knoten-eruptionen. St. pr.: Knoten im Gesicht und an den Extremitäten.	20. IX. 09	90	100	100	—	—	—	20. IX. 09	0	0	0	70	—	—
			1. II. 10	80	90	100	—	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
150	27 Jahre M. J.	Ausbruch der Krankheit vor 7 Jahren mit einem Knoten am linken Unterarm. Später mehrere im Gesicht und an den Extremitäten. Dann und wann Ulceration. St. pr.: Infiltrate und Knoten im Gesicht. An den Extremitäten zahlreiche Knoten, Infiltrate und Flecke.	26. XII. 09	0	0	20	100	—	—	26. XII. 09	0	—	—	—	—	—
			1. II. 10	0	0	60	100	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
151	14 Jahre V. G.	Ausbruch der Krankheit vor 4 Jahren mit einem roten Flecken auf der Stirn. Seitdem mehrere Eruptionsanfälle. St. pr.: Zahlreiche Knoten im Gesicht und an den Extremitäten.	20. IX. 09	70	90	100	—	—	—	20. IX. 09	0	0	0	70	—	—
			1. II. 10	80	90	100	—	—	—	1. II. 10	70	90	100	—	—	—
153	24 Jahre S. A. S.	Vor zirka 8 Jahren entstanden anästhetische Flecke an den Waden. Vor 2 Jahren entstanden Knoten und Filtrate im Gesicht und an den Armen. In dem letzten Jahr waren die Symptome wieder etwas zurückgegangen. St. pr. Vereinzelte kleine Knoten im Gesicht. Wunden an Sept. nasi. Flecke und flache Knoten an den Extremitäten.	20. IX. 09	20	90	100	—	—	—							
			1. II. 09	10	80	100	—	—	—	1. II. 10	0	—	—	—	—	—
155	35 Jahre A. S.	Ausbruch der Krankheit vor zirka 8 Jahren mit kleinen Knoten und Flecken an der linken Wade. Seither hat sich die Krankheit verschlimmert. St. pr.: Knoten und Infiltrate im Gesicht und an den Extremitäten.	20. IX. 09	80	100	100	—	—	—							
			1. II. 10	90	100	100	—	—	—	1. II. 10	40	90	100	—	—	—

Lepra tuberosa.

Lepa tuberosa.

Da die Sera von mehreren der untersuchten Blutproben eine erhebliche Eigenhemmung aufwiesen, welche unten eingehender erörtert werden soll, so mußte, um ein zuverlässiges Resultat zu erzielen, die Stärke dieser Eigenhemmung durch eine besondere Untersuchung für jedes Serum titriert werden. Die in der Hauptuntersuchung zur Verwendung gelangte absolute Komplementmenge wurde deshalb bei den verschiedenen Sera ungleich, nämlich jeweils die kleinste total lösende Menge + die durch den Herzextrakt allein gebundene Menge + die durch jedes Serum allein gebundene Menge. Nur so war es möglich, die gleiche Menge freien Komplements zur Verfügung zu haben als Reagens auf die komplementbindende Kraft der Verbindung Herzextrakt—Lepraserum.

Fassen wir das Ergebnis der in den Tabellen verzeichneten Untersuchungen zusammen, so ergibt sich folgendes. Von 19 Patienten mit *Lepra anaesthetica* reagierten bei¹⁾ zwei mit 17-wöchigem Zwischenraum vorgenommenen Untersuchungen keiner positiv; von 13 Patienten mit *Lepra mixta* reagierten bei der ersten Untersuchung 5 positiv und von diesen 5 bei der zweiten Untersuchung 4; von 18 Patienten mit *Lepra tuberosa* reagierten bei der ersten Untersuchung 6 positiv und von diesen 6 ergaben 5 wiederum positive Reaktion bei der folgenden Untersuchung. Unsere Untersuchungen weisen also deutlich darauf hin, daß die Art der Krankheit von ausschlaggebender Bedeutung ist. Noch augenfälliger wird dies, wenn man das Resultat der Untersuchung mit Verwendung von Serum in nicht erwärmtem (inaktiviertem) Zustand betrachtet. Während bei dieser von²⁾ 18 Patienten mit *Lepra anaesthetica* nur einer positive Reaktion ergab, zeigten von³⁾ 13 Patienten mit *Lepra mixta* 6 und von⁴⁾ 18 Patienten mit *Lepra tuberosa* alle 18 positive Reaktion.

-
- 1) Einer, No. 110, wurde nur einmal untersucht.
 - 2) 6 wurden zweimal, 12 einmal untersucht.
 - 3) 4 wurden zweimal, 9 einmal untersucht.
 - 4) 6 wurden zweimal, 12 einmal untersucht.

Es ist eine zuerst von Sachs und Altmann¹⁾ nachgewiesene und später durch eingehende Untersuchungen von Boas²⁾ bestätigte Tatsache, daß nicht inaktiviertes Serum von vielen Patienten mit anderen Krankheiten als Syphilis, besonders Tuberkulose, Cancer, Nephritis, positive Wassermann-Reaktion erzeugt, und zu diesen gesellt sich also die tuberoze Lepra, während die anästhetische Form auch in dieser Beziehung ihre besondere Eigentümlichkeit zeigt.

Was die Stärke der Reaktion betrifft, so ist es aus der Tabelle ersichtlich, daß sie durchweg bedeutend ist. Die stärkste Reaktion, die beobachtet wurde, zeigte sich bei No. 134, indem 0,006 ccm inaktivierten Serums totale Hämolysehemmung erzeugten. Nur 3 (No. 145, 158, 153) unter den positiv reagierenden zeigten partielle Hemmung bei Verwendung von 0,2 ccm inaktivierten Serums, die übrigen ergaben bei dieser Menge sämtlich totale Hemmung. Im großen und ganzen zeigte sich eine Uebereinstimmung der Resultate bei den zwei mit mehrwöchigem Zwischenraum entnommenen Blutproben. Doch ließen sich einige Abweichungen wahrnehmen; so ergab bei der ersten Untersuchung das Serum von No. 139 noch bei der Menge 0,05 ccm positive Reaktion, während bei der späteren Probe 0,2 ccm keine Reaktion ergaben; No. 158 ergab das erste Mal positive Reaktion (mittelstark) noch mit 0,025 ccm, während später 0,2 ccm ohne Wirkung blieben; No. 125 ergab das erste Mal positive Reaktion mit 0,1 ccm, später aber mit 0,2 ccm keine Reaktion. Diese Unterschiede sind zu groß, als daß sie technischen³⁾ Unvollkommenheiten zuzuschreiben sein könnten, welche wohl die geringeren Abweichungen, die wahrgenommen wurden, erklären können. Eine Ursache der Schwankungen haben wir nicht finden können, so wenig wie es uns möglich war, eine Relation zwischen der Stärke der Reaktion und der Heftigkeit und Dauer der Erkrankung oder dem Auftreten gewisser Krankheitserscheinungen nachzuweisen. Die stärkste Reaktion (No. 134) zeigte sich zwar bei einem sehr schwer kranken

1) Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 9.

3) Siehe Oluf Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, 1910.

Patienten, aber bei mehreren anderen Patienten (No. 100, 138, 155) mit ebenfalls stark propagierender tuberoser Lepra fehlte die Reaktion.

Da mehrere Verfasser in einigen Fällen [Wechselmann und Meier (20), Ehlers und Bourret (4)] eine stärkere Reaktion mit kleineren Mengen von Krankenserum gefunden haben wollen als mit größeren, haben wir diesem Verhältnis besondere Aufmerksamkeit zugewandt und in jedem Falle die Dosen: 0,2, 0,1 und 0,05 ccm¹⁾ gebraucht. Nur No. 134 zeigte Ansätze zu einer derartigen Reaktion, sonst haben wir nichts wahrgenommen, das dahin gedeutet werden könnte. Da es sich in diesem Falle aber nur um eine geringe Schwankung handelte, und zwar höchstens um eine solche von Hämolyse 0 bis Hämolyse 25 innerhalb der jeweiligen Serummengen, ist es wohl möglich, daß irgendeine zufällige Ursache, die mit der Reaktion an sich nichts zu tun hat, mitgewirkt haben kann. Leider war es unmöglich, die Untersuchung zu wiederholen, weil das Serum verbraucht war. Wir können somit die oben erwähnte Angabe nicht bestätigen, wonach eine geringere Serummenge nicht selten eine stärkere Reaktion ergeben soll als eine größere, sondern wir sind geneigt, solche Resultate aus mangelhafter Technik abzuleiten. Bei Syphilis gibt es eine derartige „paradoxe Reaktion“ sicher auch nicht, es sprechen dagegen die Erfahrungen, die in dem Seruminstitut auf Grund von ca. 6000 Reaktionen gewonnen worden sind, welche alle mit absteigenden Serummengen erzeugt worden sind; bei diesen Untersuchungen zeigte sich jedesmal das Vorhandensein einer Proportionalität zwischen der Serummenge und der Stärke der Reaktion.

Wie schon erwähnt, erwiesen sich viele der Serumproben als eigenhemmend, indem von den 99 Serumproben der 50 Patienten nur 15 ganz ohne diese Eigenschaft waren. Die stärkste Eigenhemmung, die wahrgenommen wurde, entsprach in der Menge 0,2 ccm des betreffenden Serums einem Prozentsatz von 140 von der geringsten total lösenden Menge Meer-schweinchenserums (Komplement), die Eigenhemmung der

1) Nur einige von den positiv reagierenden, nicht inaktivierten Sera haben wir mangels der nötigen Menge des Serums nicht genauer titriert.

übrigen Sera entsprach von 10—80 Proz. der total lösenden Menge. Es handelt sich also um recht erhebliche Eigenhemmungen, die unvermeidlich ein gänzlich unzuverlässiges Resultat ergeben müßten dahin, daß die Zahl der positiven Reaktionen vergrößert würde, sofern nicht dieser Anlaß zu Fehlern durch ausgleichende Vermehrung der Komplementmenge in jedem Einzelfalle ausgeschaltet würde.

Hinsichtlich der Eigenhemmung ist es eine bekannte Tatsache, daß das Serum von Patienten mit Tuberkulose, Syphilis, Cancer und mehreren anderen Krankheiten diese Eigenschaften mehr oder weniger hochgradig besitzen. Daß wir sie bei der Lepra ganz besonders ausgeprägt fanden, ist wahrscheinlich eine Folge der verhältnismäßig langen Zeit, welche zwischen der Entnahme des Blutes und der Bearbeitung des Serums in dem Institut lag. Die einzige Ursache kann dieser Umstand jedoch nicht sein, wie vergleichende Versuche mit 8—14 Tage altem Blut Nicht-Lepröser lehrten; die bei diesen beobachteten Eigenhemmungen waren durchweg bedeutend geringer. Ob das Serum Lepröser auch in ganz frischem Zustand eigenhemmende Eigenschaften besitzt, konnten wir nicht untersuchen, aber die neuesten Untersuchungen von Åkerberg, Almkvist und Jundell (1) sprechen dagegen. Diese Verfasser fanden nämlich, daß Serumproben Lepröser in Dosen von 0,4 ccm totale Hemmung der Hämolyse ergeben konnten, wenn zwischen dem Aderlaß und der Ausführung der Reaktion 18 Stunden vergingen, daß dagegen Sera in ganz frischem Zustand in Dosen von 0,4 ccm keine Hemmung aufwiesen. Da aber die Verfasser nicht angeben, zur Hämolyse die eben notwendige Menge Meerschweinchenkomplement verwendet zu haben, so kann es nicht als ausgeschlossen gelten, daß auch das frische Serum im Besitz einer geringen komplementbindenden Kraft gewesen sein kann. Indes zeigen die Untersuchungen der erwähnten Verfasser, daß die Eigenhemmung sehr schnell zunimmt, vielleicht infolge einer Diffusion der hemmenden Substanzen von dem Blutkoagel. Durch Inaktivierung während $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° schwindet die Eigenhemmung teilweise, aber keineswegs ganz. Die gleichen Erfahrungen mit relativer Thermolabilität der eigenhemmenden

Funktion des Serums haben kürzlich Seligmann und Pinkus¹⁾ mitgeteilt.

Eine nicht nur theoretisch, sondern auch praktisch bedeutsame Frage ist es, ob sich im Lepraserum spezifische, komplementbindende Antikörper neben den Wassermannsche Reaktion ergebenden Substanzen finden. Verschiedene Verfasser [Eitner (5), Wechselmann und Meier (20), Slatinéanu und Daniélopolu (16—17), Gaucher und Abrami (10), Eliasberg (7), Frugoni und Pisani (9), Åkerberg, Almkvist und Jundell (1) u. a.] haben diese Frage erörtert und sind zu recht verschiedenen Resultaten gelangt. Auch wir haben solche Untersuchungen angestellt, indem wir, gleich wie die oben erwähnten Verfasser, als „Antigen“ einen wässerigen Extrakt aus Lepraknoten anwendeten. Der Auszug wurde aus fein zerhacktem Gewebe eines Leproms von der Haut hergestellt; er enthielt sehr zahlreiche Leprabacillen. 1 g des bacillenhaltigen Gewebes wurden 4 ccm 0,9-proz. NaCl-Lösung zugesetzt, die Mischung wurde während 18 Stunden umgeschüttelt und dann zentrifugiert. Der so entstandene Extrakt war ganz leicht milchig. Zum Vergleich wurde ein genau entsprechender Auszug aus einem Stück normaler Haut hergestellt. Keiner der Extrakte war hämolysierend, der lepröse hatte eine ganz geringe Eigenhemmung. 0,2 ccm des Auszuges aus normaler Haut ergab keine Komplementbindung, weder mit dem Serum Lepröser noch mit dem von Syphilitikern. Der Auszug aus dem Leprom wurde mit dem Serum von 16 anästhetischen Leprakranken, von denen keiner eine positive Reaktion mit Herzextrakt als „Antigen“ ergeben hatte, untersucht. Auch mit dem Lepraextrakt ergab keiner von diesen Patienten eine positive Reaktion. Außerdem wurden untersucht 3 tuberoze Leprakranke und 3 Syphilitiker, die alle mit dem Herzextrakt positive Reaktion ergaben. Das Ergebnis ist aus Tabelle II auf p. 432 ersichtlich.

Es ergab sich also, daß der Lepraauszug bei ganz denselben Patienten, leprösen und syphilitischen, positive Reaktion erzeugte, wie der alkoholische Herzextrakt; er erscheint um

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Orig., Bd. 3, 1910, Heft 4.

Tabelle II.

	0,2 ccm alkoholischer Herz- auszug				0,2 ccm wässriger Leprom- auszug			
	Hämolyse mit Pt.-Serum				Hämolyse mit Pt.-Serum			
	0,2	0,1	0,05	0,025	0,2	0,1	0,05	0,025
Lepra tub. No. 150	0	0	60	100	0	20	80	100
" " " 161	0	0	20	100	0	40	90	100
" " " 153	10	80	100	100	40	90	100	100
Syphilis	0	0	0	70	0	0	60	100
"	0	0	80	100	0	55	100	100
"	0	20	80	100	0	70	90	100

ein geringes weniger wirksam als der Herzextrakt, sowohl bei den leprösen als bei den syphilitischen. Anhaltspunkte für die Annahme besonderer komplementbindender Lepraantikörper bieten somit diese Untersuchungen nicht.

Frugoni und Pisani (9), welche sich am deutlichsten für das Vorhandensein spezifischer Lepraantikörper in dem Blut Aussätziger geäußert haben, fanden, daß das Serum dieser Patienten Komplementbindung mit einer ganzen Anzahl von verschiedenen „Antigenen“ ergab: alkoholischen Extrakt aus syphilitischer Leber, aus Lepraknoten, aus Sarkomen und Carcinomen, Tuberkulin, Immun-Tuberkuloseserum (Höchst) und Bacillen-emulsionen. Sie sind der Ansicht, daß diese Komplementbindung nicht aus einer allgemeinen Fähigkeit des Serums Lepröser herzuleiten ist, mit den genannten Substanzen ein Komplement zu binden, sondern aus verschiedenen Funktionen, von denen jede nur imstande ist, mit einem bestimmten Antigen das Komplement zu fixieren. Unter diesen Funktionen nehmen sie auch eine solche an, die auf dem Vorhandensein spezifischer Lepraantikörper beruht, welche nur in Verbindung mit Lepraantigen reagieren. Sie suchen diese dadurch nachzuweisen, daß sie der Mischung Lepraserum + Auszug aus syphilitischer Leber erst diejenige Menge Komplement zusetzen, welche gebunden werden konnte, dann Lepraextrakt und neues Komplement. Durch diese Anordnung der Versuche wollen sie verschiedene Komplementbindungen zwischen demselben Serum und verschiedenen „Antigenen“ nachgewiesen haben. Die Einzelheiten des Ganges der Untersuchung teilen die Verfasser nicht mit, wodurch eine genauere Würdigung des Ergebnisses unmöglich gemacht wird.

Wir haben durch eine Voruntersuchung mit dem Serum zweier Patienten mit Lepra tuberosa (No. 150 und 161) die Menge des Komplements bestimmt, welche durch 0,2 ccm alkoholischen Extrakts aus Menschenherzen gebunden werden konnte. Diese Komplementmenge wurde dann 3 ccm 0,9-proz. NaCl-Lösung zugesetzt, welche 0,2 ccm des betreffenden Lepraserums + 0,2 ccm Herzauszug enthielt. Nach Stehenlassen

in einem 37°-Wasserbad während 1 Stunde wurden 0,2 ccm wässerigen Extrakts aus einem Lepraknoten sowie die geringste, für 1 ccm sensibilisierter Schafblutkörperchen total lösende Komplementmenge zugesetzt; nach abermaligem Stehen bei 37° während 1 Stunde wurden 1 ccm Ambozeptorverdünnung und 1 ccm Schafblutemulsionen (5-proz.) zugesetzt. Die Gläser zeigten nach Verlauf einer Stunde totale Hämolyse. Somit hatten sich auch durch diese Versuche keine besonderen Lepraantikörper nachweisen lassen. Durch unsere Untersuchungen haben wir also kein Mittel zur Unterscheidung der Komplementbindungsreaktion bei Lepra von der gewöhnlichen Wassermannschen Reaktion bei Syphilis gefunden.

Zusammenfassung.

Die Untersuchung umfaßt 50 aussätzige Patienten aus dem Leprahospital zu Reykjavik. Von diesen Patienten ergaben mit erwärmtem (inaktiviertem) Serum:

19 mit *Lepra anaesthetica* keine Reaktion (von jedem wurden 2 mit 17-wöchigem Zwischenraum entnommene Blutproben untersucht);

von 13 mit *Lepra tubero-anaesthetica* ergaben 5 bei der ersten Untersuchung positive Reaktion, von diesen 4 wieder bei der späteren Untersuchung;

von 18 mit *Lepra tuberosa* ergaben 6 bei der ersten Untersuchung positive Reaktion, von diesen 5 wieder bei einer späteren Untersuchung.

Nicht erwärmtes (inaktiviertes) Serum ergab positive Reaktion konstant bei Patienten mit *Lepra tuberosa* (18 Patienten), häufig (bei 6 von 13) bei solchen mit *Lepra tubero-anaesthetica* und nur bei einem von 18 Patienten mit *Lepra anaesthetica*.

Die untersuchten Sera erwiesen sich größtenteils als im Besitz einer bedeutenden Eigenhemmung, welche bei nicht inaktiviertem Serum am stärksten war.

Extrakt aus einem Lepraknoten erwies sich in Verbindung mit dem Serum lepröser wie auch syphilitischer Patienten als fähig, ein Komplement zu binden. Eine spezifische Komplementbindung zwischen Lepraserum und Lepraextrakt ließ sich nicht nachweisen.

Literatur.

- 1) Åkerberg, Almkvist und Jundell, Weitere Beobachtungen über Wassermanns Serumreaktion bei Lepra. *Lepra*, Bd. 9, 1910, Heft 2.
- 2) Bauer und Meier, G., Zur Technik und klinischen Bedeutung der Wassermannschen Reaktion. *Wien. klin. Wochenschr.*, 1908, No. 51.
- 3) Bruck, C., und Gessner, E., Ueber Serumuntersuchungen bei Lepra. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1909, No. 13.
- 4) Ehlers und Bourret, Wassermann-Reaktion ved Spedalskhed. *Ugeskr. f. Læger*, 1909, No. 49, und *Bull. de la Soc. de pathol. exot.*, T. 2, 1909.
- 5) Eitner, Ueber den Nachweis von Antikörpern im Serum eines Leprakranken mittels Komplementablenkung. *Wien. klin. Wochenschr.*, 1906, No. 51.
- 6) — Zur Frage der Anwendung der Komplementbindungsreaktion auf Lepra. *Wien. klin. Wochenschr.*, 1908, No. 20.
- 7) Eliasberg, Komplementablenkung bei Lepra mit Syphilisantigen. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1909, No. 44.
- 8) Frugoni, Syphilis und Lepra. *Arch. f. Derm. und Syph.*, Bd. 95, 1909, Heft 2—3.
- 9) Frugoni, C., und Pisani, S., Vielfache Bindungseigenschaften des Komplements einiger Sera etc. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1909, No. 33.
- 10) Gaucher und Abrami, Le sérodiagnostic de formes atypiques de la lèpre. *Lepra*, Vol. 8, 1909.
- 11) de Haan, Over het voorkomen van antistoffen in het bloedserum van lijders aan lepra. *Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indie*, Deel 49, 1909, Aflev 2—3.
- 12) Jundell, Almkvist und Sandmann, Wassermanns Syphilisreaktion bei Lepra. *Centralbl. f. innere Med.*, 1908, No. 48.
- 13) Noguchi, H., Serumdiagnosis of Syphilis etc. Philadelphia und London, 1910.
- 14) Pasini, A., Sulla reazione della deviazione del complemento nella lepra. *L'Osp. Maggiore*, Vol. 4, 1909.
- 15) Serra, A., La siero-diagnosi di Wassermann nella lepra. *Il Policlinico, Sez. medica*, Vol. 16, 1909, No. 12.
- 16) Slatinéanu et Daniélopou, Sur la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum des malades atteints de lèpre. *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig.*, Bd. 48, 1909, Heft 4.
- 17) — Présence de fixateur dans le liquide céphalo-rachidien des malades atteints de lèpre. *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig.*, Bd. 49, 1909, Heft 2.
- 18) Sugai, Zur klinisch-diagnostischen Verwertung der Komplementbindungsmethode bei Lepra. *Arch. f. Derm. u. Syph.*, Bd. 95, 1909.
- 19) Verhandlungen der II. internationalen Leprakonferenz in Bergen. Studien über Serologie und Komplementablenkung der Lepra. *Ref. Arch. f. Derm. u. Syph.*, Bd. 99, 1910, Heft 3, p. 409.
- 20) Wechselmann und Meier, G., Wassermannsche Reaktion in einem Falle von Lepra. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908, No. 31.

Nachdruck verboten.

Ueber Schutzimpfung gegen Pneumokokken mit besonderer Berücksichtigung der kombiniert aktiv-passiven Immunisierungsmethode vermittelt sensibilisierter Vaccins.

Von
Prof. **E. Levy** und Dr. **K. Aoki**,
I. Assistent am Hyg. Institut
der Universität Straßburg.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Juni 1910.)

Die Schutzimpfung gegen Pneumokokken ist im Tierexperiment bereits von überaus zahlreichen und namhaften Autoren versucht und erreicht worden. Die Triebfeder all dieser Bemühungen war ja in erster Linie wohl der Wunsch, gegen die zum Teil so mörderischen Pneumokokkenaffektionen eine spezifische Therapie zu finden. Die einschlägige Literatur hat in zusammenfassenden Uebersichten wiederholt Berücksichtigung gefunden. Wir halten es daher für nicht am Platze und direkt für überflüssig, an der Spitze unserer Experimente und Betrachtungen eine historische Uebersicht zu bringen.

Wir gingen zunächst von ganz früheren, alten Immunisierungsversuchen aus, die E. Levy und Steinmetz¹⁾ so versucht hatten, daß sie Pneumokokkenbouillonkulturen, die durch Karbolsäure im Verhältnis von 0,5 Proz. abgetötet wurden, verwandten. Die Versuchsanordnung war jetzt die folgende. Die Pneumokokken wurden jedesmal frisch aus infizierten Kaninchen in ganz schwach, aber deutlich alkalischer Bouillon gezüchtet, die zahlreiche kleine Stückchen von bis zur völligen Gerinnung gekochtem Eiereiweiß enthielt. Solche Eierbouillon eignet sich in vortrefflicher Weise, um gut entwickelte und hochvirulente Kulturen zu erzielen. Der Zusatz von Eiereiweiß zur Bouillon kann gut an Stelle eines solchen von Serum oder selbst von menschlicher Ascitesflüssigkeit treten. $\frac{1}{1.000.000}$ ccm einer solchen 48-stündigen Eierbouillonkultur tötete ein ausgewachsenes Kaninchen sicher nach 3 Tagen. Zu den 48-stündigen Kulturen setzten wir Karbolsäure im Verhältnis von 0,5 Proz. und verbrachten sie dann auf 4–15 Stunden in den Brutofen bei 37°. Wir ließen die Einwirkung so lange dauern, bis selbst ganz große Mengen von karbolisierter Kultur anstandslos bei subkutaner Injektion ertragen wurden. Das war meist nach 4 Stunden

1) E. Levy und Steinmetz, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 37.

der Fall. Eine Uebertragung auf neue Nährböden gelang bereits nach 1 Stunde nicht mehr.

Von diesen durch Karbol abgetöteten Bouillonkulturen erhielten Kaninchen subkutan und intravenös 1—40 ccm und wurden dann 10—17 Tage später mit der mehrfach tödlichen Dose von frisch aus dem Tierkörper gezüchteten Pneumokokken geprüft. Die mit kleinen Mengen schutzgeimpften ertrugen anstandslos die 10-fache tödliche Dose ($\frac{1}{100\,000}$ ccm), die mit großen Mengen, 40 ccm geimpften, die 10 000-fache ($\frac{1}{100}$ ccm). Gegen eine noch größere Menge von lebender Bouillonkultur völlig zu immunisieren, ist uns durch einmalige subkutane Vorbehandlung mit 40 ccm karbolisierten Impfstoff nicht geglückt. Die Prüfung mit $\frac{1}{10}$ ccm brachte das betreffende Kaninchen zu Fall, allerdings 1 Tag später als die Kontrolle, die 100mal weniger erhalten hatte. Vgl. Tabelle I.

Tabelle I.

Kan. g	Datum	Behandlung	Körper- gewicht g	Datum der Prüfung	Prü- fungs- dosis ccm	Resultat
2540	1. I. 08	1 ccm iv.	2500	18. I. 08	$\frac{1}{100\,000}$	gesund geblieben
2480	"	3 " "	2400	"	"	" "
2490	"	3 " 0,5-proz. Karbolsäure iv.				
2470			2475		"	nach 3 Tagen †
2170	30. I. 08	10 ccm iv.	2100	11. II. 08	"	gesund geblieben
2270	"	10 " sk.	2200	"	"	nach 3 Tagen †
2575				"	"	"
2025	14. II. 08	15 ccm sk.	2000	25. II. 08	"	gesund geblieben
2055	"	10 " "	2000	"	"	nach 3 Tagen †
2230				"	"	"
2370	14. IX. 08	40 ccm sk.	2300	25. IX. 08	$\frac{1}{1000}$	gesund geblieben
2310	"	40 " "	2290	"	$\frac{1}{100}$	" "
2440	"	40 " "	2400	"	"	" "
2440	"	40 " "	2440	"	"	" "
2170	"	40 " "	2100	"	$\frac{1}{10}$	nach 3 Tagen †
2500				"	$\frac{1}{1000}$	" 2 " †

Dagegen glückte es uns, durch drei in täglichem Intervall hintereinander erfolgende subkutane Injektionen von 45 bis 50 ccm karbolisierter Pneumokokken-Bouillonkultur Kaninchen so weit zu bringen, daß sie 2 ccm (also die 2 000 000-fache

letale Dose) virulenter Bouillonkultur 9 Tage nach der letzten Schutzimpfung ertragen. 5 ccm wurden nicht ausgehalten, das Kaninchen lebte jedoch 4 Tage, während die Kontrolle nach nur 1 ccm rasch innerhalb eines Tages zugrunde ging (vgl. Tabelle II).

W. Fornet und M. Müller¹⁾ hatten gezeigt, daß man durch 3 Tage hintereinander folgendes Einspritzen von steigenden Mengen der betreffenden Antigene bei Kaninchen bequem und rasch innerhalb 12 Tagen hochwertige präzipitierende, agglutinierende und hämolytische Sera herstellen kann. Indem sie die 3 Injektionen täglich hintereinander ausführten, gingen sie der Ueberempfindlichkeit aus dem Wege, die ja nach den bisherigen Untersuchungen höchst wahrscheinlich dadurch entsteht, daß das artfremde Eiweiß im Organismus mit den Reaktionsprodukten zusammentrifft, die durch eine frühere 10—12 Tage vorher erfolgte Einspritzung derselben Eiweißart im Laufe dieser Zeit ausgelöst werden. Wir sahen zu, ob sich dies Verfahren zu rein immunisatorischen Zwecken verwerten ließe. Wie schon erwähnt und wie die folgende Tabelle II zeigt, ist dies sehr gut möglich.

Tabelle II.

Kan. g	Datum	Behandlung 3 Tage hinter- einander	Körper- gewicht g	Prüfungs- datum	Prü- fungs- dosis	Resultat
2820	20. X. 08	50 ccm sk.	2790	1. XI.	5 ccm	nach 4 Tagen †
2700	"	50 " "	2655	"	1 "	gesund geblieben
2407	20. XI. 08	50 " "	2380	2. XII.	2 "	" "
2207	"	50 " "	2150	"	1 "	" "
2300	"	" "	"	"	1 "	nach 1 Tage †
1700	29. VI. 10	40 " "	1640	16. VII. 10	1 "	gesund
1700	"	40 " "	1650	"	1 "	"
1800	"	" "	"	"	1 "	nach 20 Std. †

Wir bemühen uns, diese Immunisierungsmethode künftighin noch weiter auszuarbeiten. Wir erstreben, was außerordent-

1) W. Fornet und M. Müller, Zur Herstellung und Verwertung präzipitierender Sera, insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch. Zeitschr. f. biolog. Technik u. Methodik, Bd. 1, 1908.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. VII.

lich schwer ist, Kaninchen an noch größere Mengen von Bouillonkulturen zu gewöhnen. Neufeld und Haendel¹⁾ sprechen sich in ähnlichem Sinne aus. Sie betonen, daß hohe Dosen von Pneumokokken nur dann vertragen werden, „wenn man die ausgeschleuderten Kokken, nicht die ganze Bouillonkultur injiziert, andernfalls sterben die gegen die Infektionswirkung gefestigten Tiere an den in der Bouillon enthaltenen Giften“. Der Ansicht von Neufeld und Haendel, daß die etwa in der Bouillon gelösten Giftstoffe für die Immunisierung zum mindesten nicht notwendig sind, vermögen wir nicht beizupflichten. Im Krankheitsbild der kroupösen Pneumonie spielt zweifellos neben der Infektion auch die Intoxikation eine große Rolle. Das geht schon daraus hervor, daß sofort nach der Krise die stürmischen Krankheitserscheinungen verschwinden, trotzdem die durch die Kokken gesetzte lobäre Infiltration noch vorläufig unverändert weiter besteht. Wir dürfen die Krise bei der Pneumonie als eine Entgiftung des Organismus betrachten. Wenn man sich aber auf diesen Standpunkt stellt, dann ist es unbedingt erforderlich, bei jedem Versuch einer spezifischen Therapie der Lungenentzündung nicht nur das Moment der Infektion, sondern auch der Intoxikation zu berücksichtigen.

Auch mit dem Filtrat der Bouillonkulturen läßt sich, wie das übrigens bereits zahlreiche Autoren fanden, Immunität erzielen. Vgl. Tabelle III. Wir haben diese Versuche vorläufig nicht weiter verfolgt, da es uns zweckmäßiger erschien, nicht nur mit den leicht löslichen, sondern auch mit den Leiberbestandteilen der Pneumokokken zu arbeiten. Ist es doch erwiesen, daß Stoffwechselprodukte nach Art der Toxine von den Pneumokokken nicht gebildet werden. Bei der Intoxikation im Krankheitsbild der Pneumonie spielen sicherlich die Leibesbestandteile der Pneumokokken mit.

1) F. Neufeld und Haendel, Ueber Herstellung und Prüfung von Antipneumokokkenserum und über die Aussichten einer spezifischen Behandlung der Pneumonie. Zeitschr. f. Immunität und exp. Therapie, I. Teil, Bd. 3, p. 159.

Tabelle III.

Kan. g	Datum	Behand- lung subkutan	Körper- gewicht g	Datum der Prüfung	Prüfungs- dosis ccm	Resultat
1720 2045	24. IV. 09	10 ccm	1720	6. V.	$\frac{1}{100\,000}$	gesund geblieben nach 2 Tagen †
1992 1960	9. V. 09	10 ccm	1990	21. V.	"	gesund geblieben nach 2 Tagen †
1360 1170 1735	13. V. 08	10 ccm 10 "	1365 1200	26. V.	"	gesund geblieben nach 3 Tagen †
1750 1975 2180	15. V. 08	10 ccm 10 "	1800 2000	26. V.	"	gesund geblieben nach 30 Std. †

Wann tritt nach Vorbehandlung mit karbolisierten Kulturen der Zustand der Immunität ein? Hierüber gibt Tabelle IV Aufschluß. Wir ersehen, daß bei der Prüfung mit der 10-fachen letalen Dose eine Resistenzerhöhung vom 3. Tage ab nachzuweisen ist. Das vaccinierte Tier überlebt die Kontrolle um 14 Stunden. Nach 4 Tagen hatten wir ein Ueberleben von 48 Stunden, nach 5 Tagen von 50 Stunden. Vom 6. Tage ab ist völlige Immunität eingetreten.

Tabelle IV.

Kaninchen g	Datum	Behandlung subkutan	Prüfungs- datum	Prüfungs- dosis ccm	Resultat
1695 1690 1735 1790	14. III. 08	15 ccm 15 "	17. III. 08 18. III. 08	$\frac{1}{100\,000}$ "	nach 48 Std. † " 34 " † " 72 " † " 24 " †
2070 2130 2190 2370 2095 2365	21. III. 08	10 ccm 10 "	26. III. 08 27. III. 08	" "	" 90 " † " 40 " † gesund geblieben nach 30 Std. †
	"	10 "	28. III. 08	"	gesund geblieben nach 30 Std. †

Es war von Interesse, nachzusehen, ob die karbolisierten Kulturen, gleichzeitig an derselben Stelle mit lebenden Pneumokokken injiziert, aggressinartige Wirkung im Sinne von

Bail entfalteten. Außerdem mußten auch die Filtrate nach dieser Richtung geprüft werden, da ja, wie E. Levy, Fornet und Granström gezeigt, die durch Tonkerzen keimfrei gemachten Bouillonkulturen der Typhus-, Proteus- und Pyocyaneusgruppe Aggressinwirkung besaßen. Große Ausschläge konnten nicht erwartet werden, eben weil die Kaninchen so sehr hoch empfänglich gegen die geringsten Mengen von Pneumokokkenleibern sind, da infolgedessen nicht wie bei anderen Aggressinversuchen mit untertödlichen Dosen gearbeitet werden konnte. Im großen und ganzen machte es den Eindruck, als ob die mit karbolisierten Kulturen oder Filtraten und lebenden Pneumokokken injizierten Tiere etwas rascher zugrunde gehen, als nach unseren Erfahrungen die nur mit lebenden Pneumokokken gespritzten Kaninchen zu sterben pflegen. Doch war dies keineswegs bei allen unseren Beobachtungen der Fall (vergl. Tabelle V).

Tabelle V.

Aggressinversuch mit der karbolisierten Bouillonkultur und dem Filtrat der Bouillonkultur.

Kan. g	Datum	Behandlung	Resultat
1200	23. I. 08	6 ccm karbolisierte Bouillonkultur + $\frac{1}{100\,000}$ ccm ip.	nach 40 Std. †
1250	"	10 " " " " + " " "	dgl.
1300	"	10 " Karbolsäure (0,5-proz.) + " " "	dgl.
1400	"	10 " karbolisierte Bouillonkultur ip.	gesund geblieben
1500	"	" " "	nach 45 Std. †
1995	14. II. 08	6 ccm karbolisierte Bouillonkultur + $\frac{1}{100\,000}$ ccm ip.	nach 30 Std. †
1955	"	10 " " " " + " " "	nach 21 Std. †
1414	"	10 " " " " ip.	gesund geblieben
1510	"	" " "	nach 40 Std. †
730	19. II. 08	10 ccm karbolisierte Bouillonkultur + $\frac{1}{100\,000}$ ccm ip.	nach 30 Std. †
670	"	10 " " " " + " " "	dgl.
690	"	19 " " " " ip.	gesund geblieben
750	"	" " "	nach 30 Std. †
650	24. II. 08	10 ccm Filtrat von Bouillonkultur + $\frac{1}{100\,000}$ ccm ip.	nach 28 Std. †
650	"	10 " " " " " + " " "	dgl.
717	"	10 " " " " " ip.	gesund geblieben
625	"	" " "	nach 30 Std. †
1970	24. IV. 08	10 ccm Filtrat + $\frac{1}{100\,000}$ ccm ip.	nach 26 Std. †
1920	"	10 " " " " " + " " "	sk. dgl.
1880	"	10 " sterilisierte Bouillon + " " "	dgl.
1720	"	10 " Filtrat	gesund geblieben
1750	"	" " "	nach 35 Std. †

Passive Immunisierungsversuche.

Da uns aus äußeren Gründen große Tiere, Pferde etc. nicht zur Verfügung standen, so nahmen wir zu Hunden unsere Zuflucht und immunisierten dieselben mit karbolisierten Bouillonkulturen, indem wir von 20—320 ccm allmählich stiegen (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Datum	Körper- gewicht g	Behandlung	Verlauf
Hund I.			
30. I. 08	6 900	20 ccm karbolis. Bouillonkult. sk.	gut ertragen
10. II. 08	6 900	30 " " " "	dgl.
19. II. 08	7 850	50 " " " "	"
28. II. 08	9 700	85 " " " "	"
18. III. 08	10 000	80 " " " "	"
6. IV. 08	11 700	185 " " " "	"
16. IV. 08	13 000	120 " " " "	"
30. IV. 08	16 000	160 " " " "	"
29. V. 08	19 000	200 " " " "	"
13. VI. 08	17 000		300 ccm Blutentnahme aus A. femoralis
26. VI. 08	17 500	250 " " " "	
13. VII. 08	17 700		ganz entblutet
Hund II.			
18. III. 08	20 000	20 ccm karbolis. Bouillonkult. sk.	gut ertragen
17. IV. 08	21 000	60 " " " "	dgl.
16. IV. 08	19 000	80 " " " "	"
30. IV. 08	20 000	100 " " " "	"
9. V. 08	18 000	140 " " " "	"
23. V. 08	18 000		Blutprobe entnommen
15. VI. 08	21 000	200 " " " "	gut ertragen
30. VI. 08	20 000		Blutprobe entnommen
29. VII. 08	19 000	320 " " " "	gut ertragen
31. VII. 08	19 000		ganz entblutet

Das so gewonnene Immunserum schützte, 24 Stunden vor Prüfung mit der 10-fachen letalen Dose subkutan injizierte Kaninchen manchmal in der Dose von 10 und 12 ccm, mit Sicherheit erst mit 20 ccm. Therapeutisch wirkte es nur, wenn es in der Menge von 30 ccm der 10-fachen tödtlichen Dose nachgespritzt wurde. Ueberleben gegenüber den Kontrollen wurde bei den passiv immunisierten Tieren wiederholt beobachtet. Normales Hundeserum zeigte in den oben genannten Mengen absolut keine Wirkung.

Tabelle VII.

Kan. g	Datum	Behandlung	Prüfungs- datum	Prüfungsdosis	Resultat
(Serum von dem ersten Hunde.)					
2000	20. VI. 08	12 ccm Imm.-Ser. sk.	21. VI. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk. an anderer Stelle	nach 2 Tagen +
1915	"	5 " " "	"	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	dgl.
1875	"	2 " " "	"	dgl.	"
1930	21. VI. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	n. 1 Std.	20 ccm Imm.-Ser. sk.	nach 2 Tagen +
1980	"	dgl.	dgl.	12 " " "	3 Tagen +
1905	"	"	"	2 " " "	2 Tagen +
1990	"	"	"	"	1 Tage +
2250	21. VII. 08	20 ccm Imm.-Ser. sk.	22. VII. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieb.
2350	"	20 " " "	"	dgl.	dgl.
1680	22. VII. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm " sk.	n. 1 " Std.	30 ccm Imm.-Ser. sk.	"
1470	"	dgl.	dgl.	30 " " "	"
2570	"	"	"	"	nach 2 Tagen +
1730	"	"	"	"	3 Tagen +
1890	25. VII. 08	10 ccm Imm.-Ser. sk.	26. VII. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieb.
2070	"	5 " " "	"	dgl.	nach 5 Tagen +
2140	"	1 " " "	"	"	4 Tagen +
2180	"	"	"	"	2 Tagen +

(Serum von dem zweiten Hunde.)

1750	25. V. 08	8 ccm Imm.-Ser. sk.	26. V. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 2 Tagen +
1725	"	8 " " "	"	dgl.	1 Tage +
1745	"	" " " "	"	"	3 Tagen +
1625	26. V. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	n. 3 Std.	10 ccm " Imm.-Ser. sk.	1 Tage +
1670	"	dgl.	"	"	4 Tagen +
2310	29. V. 08	12 ccm Imm.-Ser. sk.	30. V. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieb.
2300	"	12 " " "	"	dgl.	dgl.
2070	"	5 " " "	"	"	nach 6 Tagen +
2240	"	"	"	"	2 " +
1715	1. VII. 08	5 " " "	2. VII. 08	"	3 " +
1645	"	12 " " "	"	"	5 " +
1710	"	"	"	"	2 " +
1750	2. VII. 00	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	n. 1 Std.	20 ccm " Imm.-Ser. sk.	3 " +
1800	"	dgl.	"	"	2 " +
2350	31. VII. 08	20 ccm Norm.-S. sk.	4. VII. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	3 " +
2280	"	20 " " "	"	dgl.	3 " +
1630	4. VIII. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm " sk.	n. 1 " Std.	30 ccm norm. Ser.	2 " +
1820	"	dgl.	dgl.	dgl.	2 " +

Vom Serum eines Immunkaninchens, das, wie in Tabelle II gezeigt, nach der Schnellmethode immunisiert wurde, waren 2 ccm nötig, um 24 Stunden später gegen die 10-fache tödliche Dose zu schützen.

Tabelle VIII.

Präventiver und kurativer Versuch mit dem Kaninchenimmunserum.

Kan. g	Datum	Behandlung	Prüfungsdatum	Prüfungsdosis	Resultat
1390	17. XI. 08	2 ccm Imm.-Ser. sk.	18. XI. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieb.
1290	"	1 " " "	"	dgl.	nach 4 Tagen +
1400	"	0,5 " " "	"	"	nach 1 Tage +
1400	"	" " "	"	"	nach 1 Tage +
1210	19. XI. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	n. 1 Std.	2 ccm Imm.-Ser. iv.	nach 30 Std. +
1250	"	dgl.	"	"	nach 30 Std. +
1770	23. XII. 08	1 ccm Imm.-Ser. sk.	24. XII. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 5 Tagen +
1675	"	2 " " "	"	dgl.	gesund geblieb.
1690	"	" " "	"	"	nach 2 Tagen +

Kombiniert aktiv-passive Schutzimpfung.

Wir wandten uns nunmehr der kombinierten aktiv-passiven Schutzimpfung zu.

Seit den Untersuchungen von Lorenz über Schweinerotlauf aus dem Jahre 1892 ist dies Verfahren nach verschiedenen Richtungen hin ausgebaut worden¹⁾. Es hat sich bald herausgestellt, daß bei der kombinierten Verwendung von bakteriellen Antigenen und zugehörigen Immunseren die Menge der letzteren von ausschlaggebender Bedeutung ist. Je größer die Menge des mitinjizierten Serums ist, desto weniger Antistoffe werden erzeugt. Besredka²⁾ ließ deshalb seine Bakterienvaccins, durch Hitze abgetötete Leiber von Typhus, Cholera, Pest, nur so viel Immunserum aufnehmen, als sie zu binden vermögen. Nach ausreichendem Kontakt zwischen Antigen und zugehörigem Immunserum wurde der Ueberschuß des letzteren durch wiederholtes Waschen und Zentrifugieren entfernt. Solche Bakterienleiber bezeichnet man nach der Nomenklatur von Bordet praktisch als sensibilisiert. Die sensibilisierten Vaccins von Besredka waren im Tierexperiment absolut nicht toxisch, sie erzeugten Immunität bereits nach 24—48 Stunden. Der Zustand des Geschütztseins hielt monatelang an. A. Marie³⁾ hat dann nach demselben Prinzip ein sensibilisiertes antirabisches Vaccin dargestellt und Dopter⁴⁾ ein solches gegen Dysenterie.

1) E. Levy und A. Hamm, Ueber kombiniert aktiv-passive Schutzimpfung und Therapie beim Puerperalfieber. Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 34.

2) Besredka, De l'immunisation active contre la peste etc. Ann. Pasteur, T. 16. — De la vaccination par les virus sensibilisés. Bull. Pasteur, T. 8.

3) A. Marie, Compt. rend. de la Soc. Biologie, 29 nov. 1902, 16 déc. 1905, et Immunité contre la rage. Bulletin Pasteur, T. 6.

4) Dopter, Vaccination préventive contre la dysenterie bacillaire. Ann. Pasteur, T. 23.

Besonders von letzterem, bei dem sich ja gerade diese Frage gut beurteilen läßt, ist zu betonen, daß es jeder toxischen Wirkung entbehrt. Allerdings trat bei Dopter die Immunität nicht wie bei Besredka bereits nach höchstens 48 Stunden, sondern erst nach 4—5 Tagen ein. Aber während dieser Zeit waren die Impflinge gegenüber einer tödlichen Dysenterieinjektion nicht empfindlicher wie gesunde Tiere. Eine negative Phase war also bei ihnen nicht vorhanden. Ob aber nach Impfungen mit gewöhnlichen, nicht sensibilisierten Vaccins stets sich eine negative Phase entwickelt? Pfeiffer und Friedberger¹⁾ bekamen unmittelbar nach solcher gewöhnlicher Schutzimpfung eine Steigerung der Resistenz. Sie sehen aber dieselbe als eine nicht spezifische Resistenzhöhung im Sinne von Pfeiffer und Isaeff an. Haffkine²⁾ hat übrigens bereits vor längerer Zeit betont, daß die Einführung seines Pestvaccins schon nach 24 Stunden einen Immunitätszustand nach sich zu ziehen in der Lage ist. Wright³⁾ selbst ist auch von der Ansicht abgekommen, daß seinen Impfungen stets sich zunächst eine negative Phase anschließen muß. Genügte die Vaccinmenge gerade eben, um das Blut zu beeinflussen, so folgte unter Umständen sofort die positive Phase. Wenn nur ganz geringe Allgemeinerscheinungen nach der Injektion des Vaccins sich einstellten, so trat die positive Phase bereits am ersten Tage ein. Bei seinen Schutzimpfungen gegen Typhus mit Hilfe mäßiger Dosen von Vaccin sah Wright nach 24 Stunden im Blute eine Erhöhung des bakteriziden Titers.

Man ist also unseres Erachtens nicht berechtigt, das Nichteintreten der negativen Phase einzig und allein auf Rechnung der sensibilisierten Vaccins zu setzen. Man kann das Phänomen auch bei gewöhnlicher Vaccination beobachten. Es wird nur darauf ankommen, die richtigen passenden Dosen zu wählen.

Wir sahen zunächst zu, ob es leicht gelingt, mit sensibilisierten Pneumokokkenleibern beim Kaninchen Immunität zu erzielen, und weiter, ob verhältnismäßig früh der Zustand der Immunität sich ausbildet.

Wir gingen folgendermaßen vor:

50 ccm von 48-stündiger Eierbouillonkultur wurden 2 Stunden lang zentrifugiert, die obere Schicht vorsichtig dekantiert und dem Bodensatz dann 3 ccm Pneumokokken-Immunserum zugefügt. Nach tüchtigem Um-

1) Pfeiffer und Friedberger, Kommt der bei der aktiven Immunisierung auftretenden negativen Phase eine Bedeutung im Sinne einer erhöhten Empfänglichkeit des vaccinierten Individuums zu? Centralbl. für Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 47.

2) Haffkine, zitiert nach Wright, s. folgende Fußnote.

3) Wright, Studien über Immunisierung. Jena (Gustav Fischer) 1909, p. 145, 295, 296, 314, 345 ff.

schütteln blieben die Kokken mit dem Immunserum 3 Stunden im Brüt-ofen bei 37° stehen, um ausgiebige Bindung von Antigen und Antikörpern zu erzielen. Es folgte dann Zentrifugieren, Abgießen des überstehenden Serums, 2maliges Waschen und Zentrifugieren der Kokken mit physiologischer Kochsalzlösung, um sie ganz vom überschüssigen Immunserum zu befreien. Die gewaschenen und sensibilisierten Pneumokokken wurden dann in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit 1,1 ccm 5-proz. Karbolsäurelösung tropfenweise versetzt (also Verhältnis 0,5 Proz.) und 10–12 Stunden bei 37° stehen gelassen.

Als Immunserum benutzten wir das Pneumokokkenserum Merck, das von G. Landmann dargestellt wird. In überaus lebenswürdiger Weise wurde uns das Mittel kostenfrei zur Verfügung gestellt. Es sei uns daher gestattet, auch an dieser Stelle den Herren E. Merck und G. Landmann unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

Das Serum enthielt im Kubikzentimeter 20–40 Immunisierungseinheiten. Als Normalserum wird bei der Bestimmung ein solches bezeichnet, das mit 0,01 ccm subkutan injiziert eine Maus gegen die 24 Stunden später intraperitoneal injizierte 10–100-fache tödliche Dose schützt.

Es glückte uns verhältnismäßig leicht, Kaninchen mit Hilfe sensibilisierter Pneumokokkenleiber zu immunisieren. Als geeignete Dose erwiesen sich 8 ccm unseres Präparates. Zum Vergleich impften wir auch mit einfachem Pneumokokkenzentrifugat, also Pneumokokkenleibern, die nicht sensibilisiert, sondern nur durch Karbol im Verhältnis von 0,5 Proz. abgetötet waren. Die geeignete Dose war hier 6 ccm.

Tabelle IX (p. 446) zeigt, daß eine völlige Immunität nach den sensibilisierten Leibern sich am 3. Tage eingestellt hatte, während durch die karbolisierten Leiber am 3. Tage von zwei Tieren nur eins gerettet wurde. Bei den mit sensibilisierten Kokken behandelten Kaninchen hatten wir letzteres Verhalten schon am 2. Tag. Wie wir oben gesehen, stellte sich bei Verwendung von ganzen karbolisierten Bouillonkulturen die Resistenzerhöhung, das Längerleben als die Kontrollen, vom 3. Tage ab ein, die völlige Immunität, das Nichtsterben, erst vom 6. Tage ab. Die Tabelle IX lehrt weiter, daß die sensibilisierten Impflinge, die zugrunde gingen, alle, auch derjenige, der nach 5 Stunden geprüft wurde, eine ausgesprochene Resistenzerhöhung darboten. Sie lebten 5–6 Tage, während

Tabelle IX.

Kan. g	Datum	Behandlung	Prüfungsdatum	Prüfungs-dosis	Resultat
1940	11. X. 09	8 ccm sensib. Pneumokokken subkutan	12. X. 09	$\frac{1}{100\ 000}$ ccm sk.	n. 6 Tag. †, subk. Absceß
2000	"	dgl.	13. X.	dgl.	gesund geblieben
1900	"	"	14. X.	"	dgl.
1600	"	"	"	"	dgl.
1950	"	"	12. X.	"	nach 3 Tagen †
2100	"	"	13. X.	"	nach 2 Tagen †
2000	"	"	14. X.	"	nach 3 Tagen †
2380	26. X. 09	dgl.	27. X.	dgl.	gesund geblieben
2060	"	"	28. X.	"	nach 5 Tagen †
2150	"	"	29. X.	"	gesund geblieben
2000	"	"	"	"	dgl.
2380	"	"	27. X.	"	nach 3 Tagen †
2100	"	"	28. X.	"	nach 2 Tagen †
2100	"	"	29. X.	"	dgl.
2220	4. XI. 09	dgl.	n. 6 Std.	dgl.	gesund geblieben
2240	"	"	n. 12 Std.	"	nach 5 Tagen †
2000	"	"	"	"	gesund geblieben
2200	"	"	"	"	nach 2 Tagen †
2190	19. XI. 09	dgl.	n. 10 Std.	dgl.	gesund geblieben
2000	"	"	n. 5 Std.	"	nach 5 Tagen †
2000	"	"	"	"	gesund geblieben
2200	"	"	"	"	nach 2 Tagen †
2090	25. XI. 09	6 ccm karbolis. Pneumokokken	n. 24 Std.	dgl.	nach 3 Tagen †
1850	"	dgl.	n. 48 Std.	"	nach 3 Tagen †
1920	"	"	n. 72 Std.	"	nach 4 Tagen †
1900	"	"	"	"	gesund geblieben
2100	"	"	26. XI. 09	"	nach 3 Tagen †
1900	"	"	27. XI.	"	dgl.
1900	"	"	28. XI.	"	dgl.
1950	3. XII. 09	dgl.	n. 24 Std.	dgl.	nach 2 Tagen †
2400	"	"	n. 24 Std.	"	dgl.
2400	"	"	n. 24 Std.	"	gesund geblieben
2100	"	"	"	"	dgl.
2000	"	"	4. XII. 09	"	nach 2 Tagen †
2400	"	"	5. XII.	"	dgl.
2450	"	"	6. XII.	"	dgl.
2160	16. XII. 09	dgl.	n. 6 Std.	dgl.	nach 2 Tagen †
2050	"	"	n. 10 Std.	"	gesund geblieben
2000	"	"	"	"	dgl.

die Kontrollen nach 2, höchstens 3 Tagen starben. Bei den mit karbolisierten Pneumokokkenleibern geimpften Tieren war dies dagegen in so ausgesprochener Weise nicht der Fall. Diese Impflinge starben nach 3—4 Tagen. Ein merkwürdiges Verhalten boten drei mit sensibilisierten Pneumokokken behandelte

Kaninchen, sie blieben, das eine nach 6, das andere nach 10, das dritte nach 24 Stunden geprüft, am Leben. Von den mit karbolisierten Kokken geimpften Tieren zeigte ähnlichen Schutz nur ein Tier, das nach 10 Stunden geprüft wurde.

In dieser Versuchsreihe tritt uns auf das eklatanteste die Erscheinung entgegen, daß selbst, wenn man mit der 10-fach tödlichen Dose in der Zeit prüft, während welcher die ausgesprochene, spezifische Immunität sich ausbildet, von einer Resistenzverminderung, von einer sogenannten negativen Phase keine Rede sein kann. Allerdings gilt dies nur, wie wir ausdrücklich nochmals betonen, bei richtiger Bestimmung der immunisierenden Dosen. In diesem Falle zeigen die Impfinge direkt eine ausgesprochene Resistenzerhöhung. Dies gilt besonders von den mit sensibilisierten Pneumokokkenleibern geimpften Tieren. Wir dürfen also sagen, daß sowohl in bezug auf diesen Punkt als auch in bezug auf das schnellere Eintreten des Zustandes des völligen Geschütztseins die präventive Impfung des Kaninchens mit Hilfe von sensibilisierten Pneumokokkenleibern den Vorzug verdient.

Tabelle IX a. Zusammenfassung.

Zahl der Kaninchen	Behandlung		Resultat		
1	8 ccm sensibil. Pneumokokken	nach 5 Std. $\frac{1}{100000}$ ccm sk.	1 †	6 Tage gelebt	
1	dgl.	nach 6 Std. dgl.	leben geblieben		
1	"	" 10 " "	" "		
1	"	" 12 " "	1 †	5 Tage gelebt	
2	"	" 24 " "	1 †	6 " "	
2	"	" 48 " "	1 †	5 " "	
2	"	" 72 " "	2 " "		
			6 gesund geblieben	4 zugrunde gegangen	viel länger gelebt als Kontrollen
1	6 ccm karbolis. Pneumokokken	nach 6 Std. $\frac{1}{100000}$ ccm sk.	1 †	2 Tage gelebt	
1	dgl.	nach 10 Std. dgl.	1 gesund geblieben		
2	"	" 24 " "	2 †	eins 3 Tage gelebt, anderes 2 Tage	
2	"	" 48 " "	2 †	eins 3 Tage, and. 2 Tage gelebt	
2	"	" 72 " "	1 gesund geblieben	1 †	4 Tage gelebt
			2 gesund geblieben	6 zugrunde gegangen	ebensolang gelebt wie Kontrolltiere
10 Kontrolltiere					n. 2–3 Tagen †

E. Levy und Hamm¹⁾ waren dazu übergegangen, die sensibilisierten Vaccins therapeutisch bei menschlichen Streptokokkenaffektionen zu verwerten. Sie stellten sich ungefähr in derselben Weise wie wir, nur daß sie anstatt von 50 ccm von 10 ccm ausgingen, sensibilisierte Streptokokkenleiber her und injizierten in 2-tägigen Intervallen 5mal ca. Dosen von $\frac{1}{2}$ bis 1 ccm. Die Zahl ihrer Beobachtungen ist zu gering, um bindende Schlüsse aus ihnen zu ziehen. So viel ließ sich jedoch sagen, daß selbst in Fällen schwerster Streptokokkämie die subkutane Injektion von sensibilisierten Streptokokken keinen Schaden verursacht hat.

Wir hatten es uns als Ziel gesteckt, die Frage zu beantworten, ob es gelingt, durch therapeutische Verwendung von sensibilisierten Pneumokokkenleibern infizierte Kaninchen zu retten. Wir waren uns der Schwierigkeit der Aufgabe wohl bewußt, da ja das Kaninchen so überaus hochempfindlich

Tabelle X.

Kan.	Datum	Behandlung mit sensibilisierten Pneumokokken			Resultat
2150 g	22. XII. 09	$\frac{1}{100000}$ ccm sk.	n. 15 ^b 5 ccm iv.	am nächsten Tage 4 ccm iv.	nach 3 Tagen †
2450 "	"	dgl.	" 15 ^b 5 " sk.		" 3 " †
1950 "	"	"	"		" 3 " †
1700 "	13. I. 10	"	n. 9 ^b 9 ccm iv.		nach 2 Tagen †
2100 "	"	"	" 9 ^b 9 " sk.		" 2 " †
1970 "	"	"	"		" 2 " †
2025 "	25. I. 10	"	n. 8 ^b 10 ccm iv.	am nächsten Tage 5 ccm iv.	nach 2 Tagen †
1860 "	"	"	" 8 ^b 10 " sk.		" 2 " †
2040 "	"	"	"		" 2 " †
1500 "	1. II. 10	"	n. 4 ^b 2 ccm iv.	wieder nach 4 ^b 1 ccm iv.	nach 2 Tagen †
1500 "	"	"	" 4 ^b 2 " sk.	" " 4 ^b 1 " sk.	" 1 Tage †
1700 "	"	"	"		" 2 Tagen †
2050 "	8. II. 10	"	n. 2 ^b 2 ccm iv.	am nächsten Tage 2 ccm iv.	nach 1 Tage †
2550 "	"	"	" 2 ^b 2 " sk.	" " " 2 " sk.	" 2 Tagen †
2750 "	"	"	"		" 2 " †
2150 "	15. II. 10	"	n. 3 ^b 8 ccm sk.		nach 2 Tagen †
2050 "	"	"	gleichzeitig dgl.		gesund geblieben
2450 "	"	"	"		nach 3 Tagen †
1770 "	13. III. 10	"	n. 30' 8 ccm sk.		gesund geblieben
1760 "	"	"	gleichzeitig dgl.		"
1760 "	"	"	"		nach 30 Std. †

1) E. Levy und Hamm, loc. cit.

gegen die minimalste Menge von Pneumokokken ist und da ja die Krankheit, die pneumokokkische Sepsis, bei ihm so überaus rasch verläuft, innerhalb 2—3 Tagen bereits zum Tode führt. Wir haben (vgl. Tabelle X) unsere Versuche nach allen möglichen Richtungen hin variiert. Wir infizierten die Tiere mit $\frac{1}{100\,000}$ ccm und injizierten dann 15 oder 9, 8, 4, 3, 2 Stunden später sensibilisierte Pneumokokkenleiber in Mengen von 2—10 ccm unseres Präparates, teils subkutan, teils intravenös und intraperitoneal. Bei einzelnen Tieren wiederholten wir die Einspritzungen am nächsten Tage. Die Kaninchen gingen alle zugrunde. Sie zeigten auch keine Resistenzerhöhung, selbst diejenigen nicht, die mit den für die präventive Impfung so günstigen Dosen 4—10 ccm behandelt waren. Einige Tiere, besonders intravenös und intraperitoneal behandelte, starben verhältnismäßig rasch nach 1—2 Tagen, so daß man sich des Eindrucks nicht erwehren konnte, als ob die nachträgliche Injektion infektionsbegünstigend gewirkt hatte. Doch stellte dies Verhalten, wie wir ausdrücklich betonen, nicht die Regel dar.

Tabelle Xa.

Zahl der Tiere	Infektion subk.	Zeit der Vaccination	Menge ccm	Injektion			Resultat
1	$\frac{1}{100\,000}$	nach 15 Std.	5	iv.		zweimal	nach 3 Tag. +
1	"	" 15 "	5	sk.	einmal		" 3 " +
1	"	" 9 "	9	"	"		" 2 " +
1	"	" 9 "	9	"	"		" 2 " +
1	"	" 8 "	10	"	"		" 2 " +
1	"	" 8 "	10	"	"	"	" 2 " +
1	"	" 4 "	2	ip.		"	" 3 " +
1	"	" 4 "	2	"		"	" 2 " +
1	"	" 3 "	8	"		"	" 2 " +
1	"	" 2 "	2	"		"	" 1 " +
1	"	" 2 "	2	"		"	" 3 " +
1	"	nach 30 Min.	8	"	"		gesund
2	"	gleichzeitig	8	"	"		"

Wie wir ergänzend hier bemerken wollen, schlugen die Bemühungen, nachträglich, nach 4—5 Stunden, vermittels karbolisierter Bouillonkultur, in welcher neben den Leibern noch die löslichen Stoffwechselprodukte sich vorfinden, die infizierten Tieren zu retten, fehl. Vergl. Tabelle XI.

Tabelle XI.

Kaninch. g	Datum	Behandlung mit karbolisierter Bouillonkultur			Resultat
2049	1. IV. 08	$\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 4 Std.	10 ccm sk.	nach 39 Std. †
1900	"	dgl.	" 4 "	dgl.	" 39 " †
2040	"	"	"	"	" 30 " †
1900	"	"	"	"	gesund geblieben
1470	8. IV. 08	dgl.	nach 5 Std.	dgl.	nach 40 Std. †
1490	"	"	"	"	" 40 " †
1490	"	"	"	"	" 40 " †
1500	"	"	"	"	gesund geblieben
1750	16. IV. 08	dgl.	nach 5 Std.	dgl.	nach 40 Std. †
2020	"	"	" 5 "	"	" 40 " †
2100	"	"	"	"	gesund geblieben

Sehr gute Erfolge hatten wir dagegen zu verzeichnen, als wir die infizierende Dosis von $\frac{1}{100\,000}$ ccm gleichzeitig mit geeigneten Mengen von sensibilisierten Pneumokokkenleibern, selbstverständlich an zwei verschiedenen Stellen, subkutan injizierten. 1 und 2 ccm reichten nicht aus, um die Tiere am Leben zu erhalten. Bei Verwendung von 4 ccm blieben von 3 Kaninchen 2 am Leben, 1 starb, zeigte jedoch erhebliche Resistenzerhöhung. 2 gleichzeitig mit 6 ccm, 5 mit 8 ccm, 1 mit 10 ccm injizierte blieben alle gesund. Ein Tier, das gleichzeitig mit der subkutanen Injektion von 8 ccm sensibilisierten Pneumokokkenleibern $\frac{1}{100\,000}$ Kultur intraperitoneal erhalten hatte, ertrug auch diesen Infektionsmodus, während die Kontrolle in 2 Tagen fiel. Ein mit 15 ccm gleichzeitig subkutan gespritztes Kaninchen dagegen ging sehr rasch zugrunde. Wir ersehen also auch hieraus wieder, wie wichtig es ist, die richtigen Dosen herauszufinden. Zu geringe Dosen reichen nicht aus, zu große wirken schädlich.

Wir haben dann auch geprüft, ob man auch durch einfach karbolisierte, nicht sensibilisierte Pneumokokkenleiber bei gleichzeitiger Injektion infizierte Kaninchen am Leben erhalten kann. Auch hier war die gleichzeitige Verabreichung von 1 und 2 ccm erfolglos. Bei 4 ccm blieben von 5 Tieren 1 am Leben, 4 starben, zeigten jedoch Resistenzerhöhung. Bei 6 ccm gingen von 3 nur 1 zugrunde und 2 überstanden die Infektion. Bei 8 ccm aber starben die 2 Tiere sehr rasch. Wir haben also auch hier wieder die Ueberlegenheit

der sensibilisierten Pneumokokkenleiber gegenüber den nicht sensibilisierten zu konstatieren. Der Zustand des Geschützseins tritt bei ersteren viel sicherer ein als bei letzteren, was gleichfalls von Wichtigkeit erscheint; Dosen von 8 ccm, die bei sensibilisierten Leibern gut als Vaccin wirken, führen bei den nicht sensibilisierten den Tod herbei. Man kann also bei der gleichzeitigen Injektion von infizierendem Material und Vaccin viel mehr vom sensibilisierten als vom nicht sensibilisierten einspritzen. Vergl. Tabelle XII.

Tabelle XII.

Kan. g	Datum	Behandlung	Resultat
763	22. VI. 09	1 ccm karb. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 2 Tagen †
837	"	in andere Stelle	
958	"	2 ccm karb. Pneumok. + " " "	dgl.
1500	"	" " "	dgl.
1500	"	2 " " "	gesund geblieben
1500	28. VI. 09	1 ccm karb. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 48 Std. †
1500	"	2 " " " + " " "	" 72 " †
1690	"	4 " " " + " " "	gesund geblieben
2220	"	" " " "	nach 3 Tagen †
2000	"	4 " " "	gesund geblieben
2060	4. VII. 09	4 ccm karb. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	n. 5 Tg. †, sk. Absceß
2150	"	2 " " " + " " "	nach 2 Tagen †
1900	"	1 " " " + " " "	dgl.
2000	"	" " " "	dgl.
2000	"	4 " " "	gesund geblieben
960	9. VII. 09	4 ccm karb. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 4 Tagen †
950	"	6 " " " + " " "	dgl.
1800	"	6 " " " + " " "	gesund geblieben
1650	"	" " " "	nach 2 Tagen †
1770	22. VII. 09	8 ccm karb. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	n. 2 Tagen †, ganz plötzlich
1700	"	6 " " " + " " "	gesund geblieben
1550	"	4 " " " + " " "	nach 4 Tagen †
1770	"	" " " "	" 2 " †
1500	"	8 " " "	gesund geblieben
1350	27. VII. 09	4 ccm karb. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 4 Tagen †
1710	"	6 " " " + " " "	gesund geblieben
1640	"	8 " " " + " " "	n. 2 Tagen †, ganz plötzlich
1720	"	" " " "	nach 3 Tagen †
1500	"	8 " " "	gesund geblieben
1960	2. VIII. 09	4 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieben
1770	"	6 " " " + " " "	" "
1560	"	8 " " " + " " "	" "
1670	"	" " " "	nach 2 Tagen †
1500	"	8 " " "	gesund geblieben

Kan. g	Datum	Behandlung	Resultat
2280	22. IX. 09	4 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieben
2460	"	6 " " " + " " " "	" "
2600	"	8 " " " + " " " "	" "
2780	"	" " " "	nach 2 Tagen +
1600	"	8 " " "	gesund geblieben
1320	9. VIII. 09	1 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 2 Tagen +
1260	"	2 " " " + " " " "	dgl.
1630	"	10 " " " + " " " "	gesund geblieben
1800	"	" " " "	nach 2 Tagen +
1700	"	10 " " "	gesund geblieben
2020	14. VIII. 09	15 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 30 Std. +
1640	"	4 " " " + " " " "	n. 5 Tg. +, resistenter
2260	"	" " " "	nach 2 Tagen +
1500	"	15 " " "	gesund geblieben
2050	15. II. 10	8 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieben
2450	"	" " " "	nach 40 Std. +
1500	"	8 " " "	gesund geblieben
1760	13. III. 10	8 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	gesund geblieben
1790	"	" " " "	nach 30 Std. +
1500	"	8 " " "	gesund geblieben
1380	19. VIII. 09	8 ccm sens. Pneumok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm ip.	gesund geblieben
1330	"	" " " "	nach 2 Tagen +
1200	"	8 " " "	gesund geblieben

Tabelle XII a (Zusammenfassung).

Zahl der Kaninchen	Menge der karbolis. Pneumokokken	Resultat
3	1 ccm	alle +
3	2 "	dgl.
5	4 "	1 gesund geblieb., 4 +, aber sehr resistent
3	6 "	2 " " " 1 +, resistenter als Kontr.
2	8 "	alle +, sehr schnell
	Menge d. sensibilis. Pneumokokken	
1	1 ccm	alle +
1	2 "	dgl.
3	4 "	2 gesund geblieben, 1 +
2	6 "	alle gesund geblieben
5	8 "	dgl.
1	10 "	"
1	15 "	+

Zur Kontrolle, ob es sich vielleicht um einen nicht spezifischen Immunitätszustand im Sinne von Pfeiffer und Isaeff, Pfeiffer und Friedberger (s. p. 444) handelt, injizierten wir mit Pneumokokken infizierten Kaninchen anstatt sensibilisierter Pneumokokkenleiber gleichzeitig karbolisierte

und außerdem mit Pneumokokkenserum zusammengebrachte Streptokokkenleiber. Die Tiere erlagen alle. Ob wir aber hierin einen absolut sicheren Beweis haben, um die nicht spezifische Resistenzerhöhung auszuschließen, das wollen wir noch dahingestellt sein lassen (Tabelle XIII).

Tabelle XIII.

Kan. g	Datum	Behandlung	Resultat
1620	23. VIII. 09	6 ccm karbolis. Streptok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm Pneumok. sk.	nach 3 Tagen †
1510	"	8 " " " + $\frac{1}{100\,000}$ " " "	dgl.
1400	"	8 " " " "	gesund geblieb.
1650	"	$\frac{1}{100\,000}$ ccm	nach 3 Tagen †
2160	21. X. 09	4 ccm mit Pneumok.-Ser. sens. Streptok. + $\frac{1}{100\,000}$ ccm sk.	nach 2 Tagen †
2100	"	6 " " " " " + $\frac{1}{100\,000}$ " "	" 3 " †
2200	"	8 " " " " " + $\frac{1}{100\,000}$ " "	" 3 " †
2350	"	8 " " " " " "	gesund geblieb.
2300	"	+ $\frac{1}{100\,000}$ " "	nach 3 Tagen †

Zusammenfassung.

Es gelingt durch Pneumokokkenbouillonkulturen, die bei 37° vermittelst Karbolsäure im Verhältnis von 0,5 Proz. abgetötet werden, Kaninchen gegen die 10—10 000-fache tödliche Dose von Pneumokokken zu immunisieren. Injiziert man Kaninchen 3 Tage hintereinander große Mengen von solchen karbolisierten Bouillonkulturen, so erweisen sich die Tiere geschützt gegen die 2 000 000-fache tödliche Dose.

Das Serum von Hunden und Kaninchen, die mit karbolisierten Kulturen immunisiert wurden, eignet sich, allerdings meist erst in größeren Dosen, zur passiven Schutzimpfung.

Bei Verwendung von sensibilisierten Pneumokokkenleibern (sensibilisierten Vaccins) tritt bei Kaninchen die Immunität sicherer und rascher ein als bei nicht sensibilisierten.

Bei gleichzeitiger Injektion von lebenden Pneumokokken und Pneumokokkenvaccins bleiben bei richtiger Auswahl der Vaccindosen die Kaninchen am Leben. Auch hier zeigen die sensibilisierten Vaccins erhebliche Ueberlegenheit. Zu betonen ist, daß hierbei zu geringe Dosen für den Schutz nicht ausreichen, daß zu große Dosen ihn illusorisch machen, da der Ueberschuß infektionsbegünstigend zu wirken scheint.

*Nachdruck verboten.***Ueber das serobiologische Verhalten der Geschlechtszellen.****II. Mitteilung.**Von **W. P. Dunbar,**

Direktor des Staatl. Hygien. Instituts in Hamburg.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Juni 1910.)

Im 6. Hefte dieses Jahrganges hat Verfasser über Versuche berichtet, die ergeben hatten, daß die weiblichen und männlichen Geschlechtszellen der untersuchten Pflanzen bezw. Tiere, nach den Ergebnissen der Präzipitations- und Komplementablenkungsmethode beurteilt, sich gegeneinander und auch gegen andere Gewebsbestandteile desselben Organismus wie völlig artfremd verhielten. Im nachstehenden wird über die Ergebnisse berichtet, zu denen die anaphylaktische Methode geführt hat. Gleichzeitig möchte ich auf eine Frage eingehen, die in der ersten Mitteilung nur leicht gestreift worden ist. Nachdem ich festgestellt hatte, daß das unbefruchtete weibliche Ei allen übrigen Bestandteilen desselben Organismus gegenüber artfremd reagierte, wandte ich mich der Frage zu, wie sich das befruchtete Ei verhalten würde. Außerdem bin ich der Frage nähergetreten, wie sich die serobiologischen Reaktionen bei solchen Tieren gestalten würden, die eine Metamorphose durchmachen. Schon im Frühjahr 1909 habe ich zu diesem Zwecke Versuche eingeleitet, künstlich befruchtete Fischeier zur Entwicklung zu bringen, sowie auch befruchteten Froschlaich. Außerdem wurden Versuche mit Kohlweißlingen (*Pieris brassicae* L.) begonnen. Alle diese Versuche sind unbefriedigend verlaufen. Erst im April 1910 gelang es mir mit Hilfe des Herrn C. Riedel in Saselbek, einen Versuch mit künstlich befruchteten Eiern von Regenbogenforellen (*Trutta iridea*) einzuleiten, der sich von vornherein aussichtsreicher gestaltete. Außerdem habe ich mit Eiern, die mir die Preußische Höhere Fachschule für Textilindustrie (Spinn- und Webeschule) zu Krefeld gütigst

zur Verfügung stellte, eine Seidenspinnerkultur (*Bombyx Mori* L.) anlegen können, die allem Anscheine nach zum Ziel führen wird. Versuche zur künstlichen Befruchtung von Froschlaich, wie auch zur Ausbrütung von befruchtetem Laiche sind mir infolge äußerer Gründe auch in diesem Jahre fehlgeschlagen. Dagegen gelang es mir, reifen, unbefruchteten Laich von verschiedenen Froscharten (*Rana arvalis*, *Rana temporaria*, *Rana esculenta* L.), von Kröten (*Bufo vulgaris*) sowie auch von Salamandern (*Triton taeniatus*) durch Abstreifen zu erhalten.

Mit Hilfe dieses verschiedenartigen Materials konnte ich meine Untersuchungen auf eine etwas breitere Grundlage stellen.

Zunächst möchte ich über die anaphylaktischen Versuche berichten, die ich mit den verschiedenen Organen laich-reifer männlicher wie weiblicher Regenbogenforellen durchgeführt habe.

Anaphylaktische Versuche.

Zu den Ergebnissen, über die bei den nachstehenden Einzelversuchen berichtet ist, möchte ich folgendes erläuternd vorausschicken.

Als typische anaphylaktische Erscheinungen habe ich es bezeichnet, wenn die Tiere Pruritus, gesträubtes Haar und klonische Zuckungen, in Form von Sprungkrämpfen, zeigten. Bei Tieren, die unter solchen Erscheinungen nicht innerhalb einiger Minuten zugrunde gingen, wurde, entsprechend dem Vorschlage von H. Pfeiffer, die Temperatur im Rectum gemessen. Diese Temperaturbestimmungen haben mir sehr wertvolle Aufschlüsse gegeben. Ich verfehle aber nicht, darauf hinzuweisen, daß die Meerschweinchen nach dem Aufspannen fast stets einen Temperaturabfall zeigten. Von 200 Tieren, die ich nach dieser Richtung untersucht habe, zeigten nur 15 unveränderte Temperatur, 7 Tiere zeigten eine Temperaturzunahme von wenigen Zehntelgraden, 83 eine Temperaturabnahme zwischen 0,1 und 0,4° C, 95 aber eine Abnahme von 0,5° und mehr, davon 28 eine Abnahme von mehr als 1° C bis zu 1,9° C. Da nach meinen Feststellungen die ursprüngliche Temperatur sich nach Abspannen des Tieres nicht immer innerhalb kurzer Zeit wieder einstellt, so habe ich es für richtiger gefunden, in den nachstehenden Angaben die Temperatur als Ausgangspunkt zu benutzen, welche die Tiere nach dem Aufspannen zeigten.

30*

Bei sämtlichen Tieren, die unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde gingen, wurde der Lungenbefund festgestellt. Herr Dr. Fr. Graetz, der mit eingehenden Untersuchungen nach dieser Richtung beschäftigt ist, hat diese Bestimmungen freundlichst für mich übernommen und regelmäßig die typische Blähung der Lungen festgestellt, welche stets mit mehr oder weniger ausgeprägten, frischen, subpleuralen Blutungen vergesellschaftet war. Außerdem konnte Herr Dr. Graetz regelmäßig Stauung der Abdominalorgane sowie fast regelmäßig Nebennierenblutungen feststellen.

Mir ist aufgefallen, daß sehr viele Meerschweinchen nach intravenöser Reinjektion eine milchige Verfärbung des Urins zeigten, die durch Fettkügelchen bedingt war. Ueber diese Erscheinungen habe ich weitere Erhebungen eingeleitet.

Größere Bedeutung möchte ich einem Blutbefunde beimessen, den ich bei anaphylaktisch gestorbenen Meerschweinchen regelmäßig erhoben habe, seit ich zuerst darauf aufmerksam wurde. Untersucht man im hängenden Tropfen eine Blutprobe, die man einem anaphylaktisch reagierenden Tiere nach oder kurz vor dem Tode entnommen hat, so findet man darin dreieckige Kristalle, die ich auf Grund meiner bisherigen Feststellungen als Hämoglobinkristalle ansprechen möchte. Manchmal findet man sofort erhebliche Mengen dieser Kristalle, bei anderen Tieren zunächst nur spärliche, nach einer oder mehreren Stunden aber viele. In manchen Proben sind nach Ablauf von einigen Tagen die Blutkörperchen vollständig verschwunden, und das ganze Präparat ist angefüllt mit den erwähnten Kristallen. Manchmal kann man beobachten, wie sich die roten Blutkörperchen strahlenförmig um weiße Blutkörperchen anordnen und wie erst später die Kristallbildung einsetzt. Wie gesagt, habe ich die Kristallbildung bislang regelmäßig gefunden, und ich kann hinzufügen, daß die Art der Antigene keine Rolle dabei zu spielen schien. Nicht nur das Eiweiß von Warmblütern, sondern auch dasjenige von Fischen, von höheren Pflanzen wie auch das Eiweiß von Mikroorganismen ergab dieselben Befunde. In Blutproben, die ich vor Injektion entnahm, habe ich die Kristalle bislang niemals angetroffen. Ich bin vorläufig der Meinung, daß ich mit diesen Befunden die auslösende Ursache für den anaphylaktischen Anfall gefunden habe, behalte mir aber eine weitere Prüfung dieser Frage vor.

Das Gewicht der Meerschweinchen wurde am Tage der ersten Reinjektion bestimmt. Da diese gelegentlich erst nach 2 Monaten oder später vorgenommen wurde, so weist ein Teil der Tiere eine sehr erhebliche Gewichtszunahme auf. Dadurch erklären sich die bedeutenden Differenzen in den nachstehenden Tabellen. Zur Zeit der Sensibilisierung hatten die Tiere zumeist annähernd gleiches Gewicht.

Versuche mit Forellen-Blutserum.

Am 6. IV. 10 wurden die Meerschweinchen 102—109 mit 0,005 ccm Forellen-Blutserum subkutan sensibilisiert. 17 Tage später wurde einem

dieser Tiere (102) 1 ccm Forellen-Rogenextrakt intravenös eingespritzt. Das Tier hatte einen Temperaturabfall von $1,1^{\circ}\text{C}$ und zeigte einige klonische Zuckungen, erholte sich aber sofort wieder. Die Temperatur war nach einer halben Stunde wieder normal. Dem Tier wurde jetzt iv. 1 ccm Forellen-Blutserum eingespritzt. Es zeigte sofort Sprunghämpfe und starb innerhalb 5 Minuten.

Ein zweites Tier (103) wurde am selben Tage mit Forellen-Rogen behandelt. Es reagierte wie das vorhergehende. Auf darauffolgende iv. Einspritzung von $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum zeigte es einen Temperaturabfall von $3,4^{\circ}\text{C}$ und agonale Erscheinungen. Es erholte sich aber wieder.

Am 62. Tage nach der Sensibilisierung wurden die übrigen Tiere in den Versuch genommen. Eines der Tiere (106) erhielt iv. 1 ccm Forellen-Blutserum und starb innerhalb 6 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Das Meerschweinchen 105 erhielt iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. Es zeigte einen Temperaturabfall von $0,5^{\circ}\text{C}$ und war sofort wieder munter. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Blutserum und starb unter typischen Erscheinungen.

Das Meerschweinchen 107 erhielt am darauffolgenden Tage 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft iv. (Eiweißgehalt 7 Proz.). Es zeigte einen Temperaturabfall von 1°C und war sofort wieder munter. 3 Tage später starb es auf iv. Injektion von 1 ccm Forellen-Blutserum innerhalb 7 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Ein weiteres Tier (108), welches iv. 2 ccm Forellen-Spermaextrakt erhielt, zeigte einen Temperaturabfall von nur $0,9^{\circ}\text{C}$ und erholte sich sofort wieder. 3 Tage später ging es auf iv. Injektion von 1 ccm Forellen-Blutserum innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen ein.

Das Tier 109 erhielt iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt. Es zeigte überhaupt keinen Temperaturabfall und war sofort wieder munter. Nach 3 Tagen erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte fibrilläre Zuckungen und einen Temperaturabfall von $0,6^{\circ}\text{C}$, erholte sich aber bald.

Die nachstehende Tabelle¹⁾ enthält nähere Einzelheiten über den beschriebenen Versuch.

1) Abkürzungen in den Tabellen:

R.-I.	= Reinjektion.
T.-A.	= Temperaturabfall.
†	= stirbt.
Fo.-Ro.-E.	= Forellen-Rogenextrakt.
Fo.-Sp.-E.	= Forellen-Spermaextrakt.
Fo.-Li.-E.	= Forellen-Linsenextrakt.
Fo.-Fl.-P.	= Forellen-Fleischpreßsaft.
Fo.-Bl.-Se.	= Forellen-Blutserum.

Tabelle I.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 102—109 am 6. IV. 10 subk. mit 0,005 ccm Forellen-Blutserum sensibilisiert.

M.-Schw.	Tage nach Sens.	I.-R.-I. iv.	T.-A. ° C	Sympt.	II. R.-I. iv.	Zeit n. d. I. R.-I.	T.-A. ° C	Sympt.
No.	Gew. g							
102	350	17	1 ccm Fo.-Ro.-E.	1,1	klon. Zuck.	1 ccm Fo.-Bl.-Se.	55 Min.	st. klon. Zuck., † in 5 Min.
103	350	17	1 ccm Fo.-Ro.-E.	1,3	fibr. Zuck.	1/2 ccm Fo.-Bl.-Se.	20 Min.	3,4 agonale Erschein., überlebt
106	500	62	1 ccm Fo.-Bl.-Se.		Sprungkr. † in 6 Min.			
105	650	62	1 ccm Fo.-Ro.-E.	0,5	keine	1 ccm Fo.-Bl.-Se.	2 Tage	Sprungkr., † in 6 Min.
107	510	63	2 ccm Fo.-Fl.-P.	1	„	dgl.	3 „	Sprungkr., † in 7 Min.
108	620	63	2 ccm Fo.-Sp.-E.	0,9	„	dgl.	3 „	Zitterkr., † in 5 Min.
109	430	63	1 ccm Fo.-Li.-E.	0	„	dgl.	3 „	0,6 Zitterkr., überlebt

Diese Ergebnisse enthalten eine vollständige Bestätigung meiner früheren Veröffentlichung, wonach die Geschlechtszellen, das Blutserum, das Fleischeiweiß und, wie in Bestätigung der Uhlenhuthschen Feststellungen hinzugefügt werden kann, die Linsen ein und desselben Organismus serobiologisch wie artfremde Antigene reagieren.

Ganz anders verlief der folgende Versuch:

Am 23. IV. 10 wurden die Meerschweinchen 178—187 subkutan mit 0,01 ccm Forellen-Blutserum sensibilisiert, also doppelt soviel, als bei dem oben beschriebenen Versuch. 44 Tage später erhielt eines dieser Tiere (179) 1 ccm Forellen-Rogenextrakt iv. Es starb innerhalb 2 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Ein zweites Tier (180) erhielt iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte einen typischen anaphylaktischen Anfall. Die Temperatur sank unter 30° C, das Tier erholte sich aber wieder. 2 Tage darauf erhielt das Tier iv. 1 ccm Forellen-Blutserum und starb unter typischen Erscheinungen innerhalb 5 Minuten.

Ein Tier (181), das iv. mit 1 ccm Forellen-Linsenextrakt nachbehandelt wurde, zeigte nur einen Temperaturabfall von 0,3° C, ein mit Forellensperma (182) behandeltes Tier einen Temperaturabfall von 1,6° C. Beide Tiere erholten sich schnell wieder. Nach Ablauf von 48 Stunden erhielten

sie iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Die Tiere starben innerhalb weniger Minuten unter typischen anaphylaktischen Symptomen.

Ein anderes Tier aus der Gruppe (187) erhielt iv. 3 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte typische anaphylaktische Symptome und erschien schwer krank, obgleich der Temperaturabfall nur 1,4° C betrug. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Um festzustellen, ob nicht der verwendete Forellen-Rogenextrakt und das Blutserum schädlich wirkten, erhielt je ein normales Meerschweinchen iv. 2 ccm des Rogenextraktes (382) und 2 ccm von dem verwendeten Blutserum (383). Die Tiere zeigten keine anaphylaktischen Symptome.

Die nachstehende Tabelle enthält Näheres über diesen Versuch.

Tabelle II.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 178—187 am 23. IV. 10 subkutan mit 0,01 ccm Forellen-Blutserum sensibilisiert.

M.-Schw.- No.	Gew. g	Tage nach Sens.	I. R.-I. iv.	T.-A. ° C	Sympt.	II. R.-I. iv.	Zeit n. d. I. R.-I.	T.-A. ° C	Sympt.
178	370	28	1 ccm Fo.- Bl.-Se.		klon. Zuck. gelähmt † in 5 Min.				
179	430	44	1 ccm Fo.- Ro.-E.		Sprungkr. † in 2 Min.				
180	470	44	2 ccm Fo.- FL.-P.	9	Zitterkr.	1 ccm Fo.- Bl.-Se.	2 Tage		Sprungkr. † in 5 Min.
181	380	44	1 ccm Fo.- Li.-E.	0,3	keine	dgl.	2 „		Sprungkr. † in 7 Min.
182	340	44	2 ccm Fo.- Sp.-E.	1,6	keine	dgl.	2 „		Sprungkr. † in 15 Min.
187	400	45	3 ccm Fo.- FL.-P.	1,4	Zitterkr.	1 ccm Fo.- Ro.-E.	2 „		Sprungkr. † in 5 Min.
382	350	7. VI. 10	iv. 2 ccm Fo.-Ro.-E. Kontrolle	0,5	etwas benommen, erholt sich aber schnell				
383	320	7. VI. 10	iv. 2 ccm Fo.-Bl.-Se. Kontrolle	1,3	Bauchlage, erholt sich aber bald				

Ein Vergleich der beiden vorstehenden Versuche läßt folgendes erkennen. Die mit $\frac{1}{200}$ ccm Forellen-Blutserum sensibilisierten Tiere erwiesen sich fast vollständig refraktär gegenüber dem Rogen, Sperma, Fleisch und Linsen. Die Tiere aber, die mit $\frac{1}{100}$ ccm Blutserum, also der doppelten, aber immerhin einer noch sehr geringen Menge, vor-

behandelt waren, reagierten auf Rogen wie auf das homologe Antigen und auf Fleisch sehr stark, aber nicht ganz so heftig, auf Linsen und Sperma kaum nachweisbar. Auffallend ist hierbei, daß die Tiere, welche nach ausgesprochenem Anfall überlebten, 2 Tage später keine Zeichen von Anti-anaphylaxie aufwiesen.

Forellenrogen unbefruchtet.

Am 9. III. 10 wurden die Meerschweinchen 29—34 subkutan mit 0,1 ccm Forellen-Rogenextrakt (Eiweißgehalt 16,13 Proz.) sensibilisiert. Nach 35 Tagen erhielt eines dieser Tiere (31) iv. 2 ccm Forellen-Spermaextrakt. Es zeigte einen Temperaturabfall von 1° C, erschien aber völlig munter und erhielt 9 Minuten später iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt. Die Temperatur fiel um 0,9° C, und das Tier zeigte Zittern, leichte klonische Zuckungen, gestäubtes Haar und Kotabgang. 9 Minuten später erhielt das Tier iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Hierauf reagierte es nicht nennenswert, vielmehr begann die Temperatur wieder zu steigen. Das Tier erholte sich bald und wurde völlig munter. Nach 3 Tagen erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt, und es starb innerhalb 5 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Andere Tiere derselben Gruppe verhielten sich entsprechend, ich gehe deshalb auf sie nicht näher ein.

Tabelle III.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 31 am 9. III. 10 subkutan mit 0,1 ccm Forellen-Rogenextrakt sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. ° C	Sympt.
31	410	35 Tage		2 ccm Fo.-Sp.-E.	1	keine leichte klon. Zuck. fibr. Zuck. klon. Zuck., † in 5 Min.
			9 Min.	1 „ Fo.-Li.-E.	0,9	
			9 „	1 „ Fo.-Bl.-Se.		
			3 Tage	1 „ Fo.-Ro.-E.		

Diesem, gegen Forellenrogen ausreichend sensibilisierten Tiere konnten mithin ziemlich erhebliche Mengen von Forellen-Sperma-, Forellen-Blut- und Forellen-Linsenextrakt iv. eingespritzt werden, ohne daß es darauf nennenswert reagierte. Auch zeigte sich keinerlei Absättigung der sensibilisierenden Stoffe, denn 3 Tage später tötete das homologe Antigen das Tier sofort unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Am 9. IV. 10 wurden die Meerschweinchen 124—128 mit 0,02 ccm Forellen-Rogenextrakt (Eiweißgehalt 4,8 Proz.) subkutan sensibilisiert. Eines dieser Tiere (125) erhielt 23 Tage später iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft (Eiweißgehalt etwa 7 Proz.). Das Tier blieb munter und zeigte nur einen Temperaturabfall von 0,9° C, sonst keine Erscheinungen. 48 Stunden später erhielt es iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 3 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Das Meerschweinchen 126 erhielt 23 Tage nach der Sensibilisierung iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte außer leichten fibrillären Zuckungen und einem Temperaturabfall von 1° C keine Erscheinungen und erholte sich sehr schnell. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 3 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Tabelle IV.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 125 und 126 am 9. IV. 10 subkutan mit 0,02 ccm Forellen-Rogenextrakt sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. ° C	Sympt.
125	410	23 Tage	2 Tage	2 ccm Fo.-Fl.-P. $\frac{1}{2}$ „ Fo.-Ro.-E.	0,9	keine Sprungkr., † in 3 Min.
126	440	23 „	2 „	$\frac{1}{2}$ „ Fo.-Bl.-Se. 1 „ Fo.-Ro.-E.	1	fibr. Zuck. Sprungkr., † in 3 Min.

Diese Versuche scheinen also die vorhergehenden dahin zu bestätigen, daß die in Frage stehenden verschiedenen, aus Forellen gewonnenen Antigene serobiologisch artfremd reagieren.

Das Blutserum von 2 Exemplaren dieser Tiergruppe (127, 128) wurde zu passiven anaphylaktischen Versuchen verwendet.

4 Tiere, welche iv. je $\frac{1}{2}$ ccm Blutserum von Meerschweinchen 127 38 Tage nach der Sensibilisierung erhielten, reagierten auf das homologe Antigen, Forellenrogen, nach 24 Stunden bzw. 2—5 Tagen nicht sehr heftig. 4 Meerschweinchen dagegen, welche iv. je 2—3 ccm Blutserum von Meerschweinchen 128 52 Tage nach der Sensibilisierung erhalten hatten, starben innerhalb weniger Minuten unter typischen Erscheinungen auf die Reinjektion von 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. 2 von diesen Tieren hatten vorher die iv. Reinjektion von Forellenblut bzw. Forellenlinsen, sowie auch von Karpfenrogen ohne nennenswerte Reaktion vertragen. Der 14 Tage längeren Inkubationszeit wird hier ein größerer Einfluß zuzuschreiben sein, als der geringen Differenz zwischen $\frac{1}{2}$ und 2 ccm Serum die injiziert wurden.

Tabelle V.

Passive Anaphylaxie.

Das Blutserum der 38 bzw. 53 Tage vorher gegen Forellenrogen sensibilisierten Meerschweinchen 127 und 128 wird den Meerschweinchen 268 bis 271 und 367—370 iv. eingespritzt.

M.-Schw.		Dat.	Dosis ccm	Zeit n. Sens.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
No.	Gew. g						
268	300	17. V.	1½ v. 127	24 Std.	1 ccm Fo.-Ro.-E.	0,6	Pruritus, gestr. Haar, überlebt
269	370	17. V.	1½ „ 127	48 „	1 „ „	2,3	Lähmungserscheinungen, überlebt
270	300	17. V.	1½ „ 127	5 Tg.	1 „ „	0	Pruritus, überlebt
271	360	17. V.	1½ „ 127	5 „	1 „ „	0,1	keine, überlebt
367	400	1. VI.	2 „ 128	48 Std.	1 „ Fo.-Bl.-Se.	0,2	Lähmungserscheinungen
					n. 22 Min. 1 ccm Karpf.-Ro.-E.	0,6	Lähmungserscheinungen, klon. Zuck.
					n. 23 Min. ¼ ccm Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 4 Min.
368	380	1. VI.	2½ „ 128	48 Std.	1 ccm Fo.-Li.-E.	0,8	ger. Lähmungserscheinungen
					n. 25 Min. 1 ccm Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 3 Min.
369	280	1. VI.	3 „ 128	24 „	1 ccm Fo.-R.-E.		Sprungkr., † in 2 Min.
370	300	1. VI.	2 „ 128	24 „	1 „ „		sofort †

Anders verlief der folgende Versuch.

Am 19. V. 10 wurden die Meerschweinchen 296—301 subkutan mit ½ ccm Extrakt aus unbefruchtetem Forellenrogen behandelt (4,8 Proz. Eiweißgehalt). 19 Tage später erhielt eines dieser Tiere (296) iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es starb innerhalb 5 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

297 erhielt am selben Tage iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es reagierte mit Lähmungserscheinungen, Sprungkrämpfen und einem Temperaturabfall von 1,6° C, erholte sich aber innerhalb einer Stunde vollständig wieder. 2 Tage später erhielt das Tier iv. 1 ccm Forellenrogen und starb innerhalb 3 Minuten unter typischen Erscheinungen.

299 erhielt am selben Tage iv. 2 ccm Forellensperma. Es zeigte keinerlei Erscheinungen. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

298 erhielt am selben Tage iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt, worauf es gar nicht reagierte. 20 Minuten später erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogenextrakt, worauf es innerhalb 3 Minuten unter typischen Erscheinungen starb.

Tabelle VI.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 296—301 am 19. V. 10 subkutan mit $\frac{1}{2}$ ccm konzentriertem Forellen-Rogenextrakt sensibilisiert.

M.-Schw.		Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
No.	Gew. g					
296	300	19 Tage		1 ccm Fo.-Bl.-Se.	1,6	† in 5 Min.
297	370	19 „		2 „ Fo.-Fl.-P.		Sprungkr., Lähmungs- erscheinungen
			2 Tage	1 „ Fo.-Ro.-E.	0,2	Sprungkr., † in 3 Min.
299	390	19 „		2 „ Fo.-Sp.-E.		keine
			2 „	1 „ Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 5 Min.
298	480	19 „		1 „ Fo.-Li.-E.		keine
			20 Min.	1 „ Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 3 Min.

Hier wiederholt sich also die Erscheinung, daß die quantitativen Verhältnisse bei den anaphylaktischen Versuchen eine hervorragende Rolle spielen. Während Tiere, die mit 0,1 und 0,02 ccm Forellen-Rogenextrakt sensibilisiert worden waren, nur auf das homologe Antigen reagierten, werden Tiere, die 0,5 ccm erhalten haben, dadurch auch gegen Blutserum sensibilisiert, sowie auch gegen das Forellen-Fleischeiweiß, wenn auch in nicht so hohem Maße. Fast gar keine Reaktion wurde bei diesen Tieren mit Forellensperma und Forellenslinsen erzielt.

Forellenfleisch.

Das Fleisch der entbluteten Forellen wurde in Streifen geschnitten, von den Blutgefäßen möglichst befreit, mehrfach abgespült, über Nacht in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt, am nächsten Morgen in einer Fleischmaschine zerkleinert und mit einem Teil physiologischer Kochsalzlösung auf einen Teil Fleischsubstanz ausgezogen. Der Extrakt enthielt 2,13 Proz. Eiweiß.

Am 22. III. 10 wurden die Meerschweinchen 41—46 subkutan mit $\frac{1}{100}$ ccm dieses Extraktes sensibilisiert.

18 Tage später erhielt ein Meerschweinchen (44) iv. 1 ccm homologen Extrakt. Es starb unter typischem Anfall innerhalb 10 Minuten.

An demselben Tage erhielt Meerschweinchen 41 iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. Es starb unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen innerhalb 3 Minuten. Der Versuch wurde an einem zweiten Tier (42) mit demselben Erfolge wiederholt.

Ein anderes Tier (43) erhielt an demselben Tage iv. 1 ccm Forellen-Spermaextrakt, ohne nennenswert darauf zu reagieren. Nach 59 Tagen erhielt dasselbe Tier iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt, worauf es innerhalb 4 Minuten unter typischen Erscheinungen starb.

45 und 46 erhielten am 27. Tage nach der Sensibilisierung iv. je 1 ccm Forellen-Spermaextrakt. Auch jetzt trat keine Reaktion ein. Das eine von den Tieren (46) erhielt gleich darauf iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 7 Minuten unter typischen Erscheinungen. Das andere Tier (45) erhielt gleich nach dem Sperma iv. 1 ccm Forellen-Fleischextrakt. Es reagierte mit Sprungkrämpfen und mit einem Temperaturabfall von 1,5° C, starb aber erst 2 Tage später.

Tabelle VII.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 41—46 am 22. III. 10 subkutan mit 0,05 ccm Forellen-Fleischextrakt (2,13 Proz. Eiweiß) sensibilisiert.

M.-Schw.		Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
No.	Gew. g					
44	560	18 Tage		1 ccm Fo.-Fl.-E.		klon. Zuck., † in 10 Min.
41	400	18 "		1 " Fo.-Ro.-E.		klon. Zuck., † in 3 Min.
42	420	18 "		1 " "		klon. Zuck., † in 2 Min.
43	560	18 "		1 " Fo.-Sp.-E.		keine
			59 Tage	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 4 Min.
46	420	27 "		1 " Fo.-Sp.-E.	2	keine
			21 Min.	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 7 Min.
45	390	27 "		1 " Fo.-Sp.-E.	1,3	keine
			25 "	1 " Fo.-Fl.-E.	1,5	klon. Zuck., † nach 2 Tagen

Weiter oben wurde den quantitativen Verhältnissen eine große Bedeutung beigemessen. Es will scheinen, als ob dieser Faktor bei den mit Forellenfleisch sensibilisierten Tieren nicht entsprechend ins Gewicht fiel, wenn man die folgenden Ergebnisse ins Auge faßt. Zu berücksichtigen ist bei denselben, daß der zu beschreibende Fleischpreßsaft vor Gebrauch fast regelmäßig frisch hergestellt wurde, während der Extrakt unter Umständen nach längerem Stehen zur Verwendung kam. Schon bei den Komplementablenkungsversuchen hatte sich herausgestellt, daß die Antigene nach längerem Stehen, namentlich wenn Zersetzungs Vorgänge bemerkbar wurden, unter Umständen unspezifische Ablenkung zeigten. Für das Uebergreifen der Reaktion können solche Zersetzungen aber nicht in allen von mir beobachteten Fällen verantwortlich gemacht

werden. Auch bei ganz frisch bereiteten Antigenen habe ich es unter Umständen beobachtet.

Am 23. IV. 10 wurden die Meerschweinchen 167—177 subkutan mit 0,05 ccm Preßsaft aus Forellenfleisch (Eiweißgehalt 7 Proz.) sensibilisiert.

Den Preßsaft stellte ich folgendermaßen her. Das Fleisch der entbluteten Forellen wurde wie für die Extraktgewinnung in Streifen geschnitten, gesäubert und ausgelaugt. Nach kräftigem Ausdrücken der anhaftenden Flüssigkeit wurden die Fleischstreifen unter eine Presse gebracht. Der auslaufende Saft wies nach Zentrifugieren einen bedeutend höheren Eiweißgehalt auf, als der früher verwendete Extrakt.

Am 16. Tage nach der Sensibilisierung erhielt 167 iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es reagierte mit Sprungkrämpfen und einem Temperaturabfall von 4° C, erholte sich aber und überlebte. Obgleich also reichlich die 60-fache Menge Antigen verimpft worden war, war das Tier am 16. Tage noch nicht genügend hochgradig sensibilisiert, während das mit Extrakt behandelte Meerschweinchen 44 nach 18 Tagen genügend sensibilisiert gewesen war.

3 Tage später dagegen starb ein zweites Tier dieser Gruppe (168), das nur $\frac{1}{4}$ ccm desselben Forellen-Fleischpreßsaftes iv. erhalten hatte, innerhalb 10 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Ein drittes Tier (176) erhielt am 39. Tage nach der Sensibilisierung iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. Es reagierte nicht mit sichtbaren Erscheinungen und mit einem Temperaturabfall von nur 0,2° C. 13 Minuten später erhielt es iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum, worauf es ebenfalls nicht sichtbar reagierte, außer daß sich die Haare sträubten und die Atmung etwas beschleunigt wurde. Die Temperatur fiel um 2° C. 48 Stunden später wurde dem Tiere 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft injiziert. Die Temperatur sank nur um 1° C. Außer vorübergehender Lähmung und Pruritus zeigte das Tier keine Erscheinungen und überlebte. Die Vorbehandlung mit Blutserum und Rogen dürfte in diesem Falle das Tier anti-anaphylaktisch gemacht haben.

Tabelle VIII.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 167—177 am 23. IV. 10 subk. mit 0,05 ccm Forellen-Fleischpreßsaft (Eiweißgehalt 7 Proz.) sensibilisiert.

M.-Schw.		Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
No.	Gew. g					
167	300	16 Tage	13 Min. 2 Tage	2 ccm Fo.-Fl.-P.	4,0	klon. Zuck., überlebt
168	380	19 "		$\frac{1}{4}$ " Fo.-Fl.-P.		Sprungkr., † in 10 Min.
176	420	39 "		1 " Fo.-Ro.-E.	0,2	Pruritus
				$\frac{1}{2}$ " Fo.-Bl.-Se.	2,0	gestr. Haar
				1 " Fo.-Fl.-P.	1,0	Lähmungserscheinung, überlebt

Ein anderes Tier aus dieser Gruppe (177) wurde entblutet. 2 Meerschweinchen wurden iv. je 3 ccm Blutserum davon eingespritzt. Das eine Tier (371) erhielt 24 Stunden später iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es reagierte darauf mit einem Temperaturabfall von nur 0,5° C.

Am dritten Tage nach der passiven Sensibilisierung erhielt das andere Tier (372) 2 ccm des homologen Antigens. Es zeigte vorübergehende Zitterkrämpfe und Temperaturabfall von 0,5° C. Das Tier erholte sich aber ebenfalls sehr schnell wieder.

Tabelle IX.

Passive Anaphylaxie.

Das Blutserum des 43 Tage vorher gegen Forellen-Fleischpreßsaft sensibilisierten Meerschweinchens 177 wird den Meerschweinchen 371 und 372 iv. eingespritzt.

M.-Schw.		Dat.	Dosis ccm	Zeit nach Sens.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
No.	Gew. g						
371	220	5. VI.	3	24 Std.	2 ccm Fo.-Fl.-P.	0,5	Zitterkr., überlebt dgl.
372	230	5. VI.	3	3 Tage	2 „ Fo.-Fl.-P.	0,5	

Die Meerschweinchen 211—215 wurden am 13. IV. 10 mit 0,1 ccm Forellen-Fleischextrakt subk. und am 6. V. 10 mit 1/10 ccm Forellen-Fleischpreßsaft iv. sensibilisiert. Auf diese zweite Vorbehandlung reagierten die Tiere mit Temperaturabfällen von 1,3—2,5° C ohne nennenswerte äußere Symptome.

32 Tage nach der iv. Behandlung erhielt 211 iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. Es starb innerhalb 3 Minuten unter typischem Anfall.

212 erhielt am selben Tage iv. 1 ccm Forellen-Blutserum und starb ebenfalls innerhalb 3 Minuten unter typischem Anfall.

214 erhielt 1 Tag später iv. 1 ccm Forellensperma und reagierte nur mit einem Temperaturabfall von 1,8° C und leichten Zuckungen. Nach 3 Tagen erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb unter typischen Erscheinungen innerhalb 2 Minuten.

213 erhielt 33 Tage später iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt und reagierte mit einem Temperaturabfall von 0,8° C ohne äußere Erscheinungen. 3 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb unter typischen Erscheinungen innerhalb 5 Minuten.

215 erhielt am 18. VI. 10 iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft und starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Tabelle X.
Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 210—215 am 13. IV. 10 subk. mit 0,1 ccm Forellen-Fleischextrakt und am 6. V. 10 iv. mit $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Fleischpreßsaft sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit n. iv. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
211	250	32 Tage		1 ccm Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 3 Min.
212	290	32 "		1 " Fo.-Bl.-Se.		dgl.
214	250	33 "		1 " Fo.-Sp.-E.	1,8	leichte Zuck., überlebt
			3 Tage	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 2 Min.
213	300	33 "		1 " Fo.-Li.-E.	0,8	keine
			3 "	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 5 Min.
215	320	43 "		2 " Fo.-Fl.-P.		Zitterkr., † in 3 Min.

Zusammenfassend ist über die Versuche mit Fleisch-extrakten und Fleischpreßsäften zu sagen, daß zwar Tiere, die mit Forellen-Fleischeiweiß hoch sensibilisiert sind, auf Reinjektion von Rogen und Blut sofort unter typischen anaphylaktischen Anfällen sterben, daß aber Tiere, die mit Rogen sensi-bilisiert sind, auf Reinjektion von erheblichen Mengen von Fleischpreßsaft (iv. 2 ccm von 7 Proz. Eiweißgehalt) überleben und 2 Tage später sich gegenüber dem homologen Antigen nicht anti-anaphylaktisch erweisen. Einem gegen Forellen-Blut-serum sensibilisierten Tiere (187) konnte ich sogar 3 ccm Fleischpreßsaft iv. einspritzen, ohne daß es starb. 48 Stunden später starb es auf iv. Injektion von 1 ccm Forellen-Rogen-extrakt innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen (s. Tabelle II).

Die Reaktionskraft des Fleischeiweißes ist hiernach er-heblich geringer als diejenige des Rogen- und Blutserum-eiweißes, denn Tiere, die gegen Fleischeiweiß immunisiert sind, bedürfen zur Tötung erheblich größerer Mengen des homologen Antigens als von dem heterologen Rogen- und Blut-serumeiweiß. Auf diesen Punkt werde ich weiter unten noch zurückzukommen haben.

Forellensperma.

Wenn schon bei den Tieren, die mit Forellen-Fleischpreßsaft und -extrakt sensibilisiert waren, die auffallende Beobachtung gemacht wurde, daß man diese Tiere teilweise mit Forellen-Blutserum und Forellen-Rogenextrakt töten konnte, nicht aber mit dem homologen Antigen, so zeigt sich diese Erscheinung bei den mittels Forellensperma sensibilisierten Tieren noch ausgesprochener, denn die gegen Fleischeiweiß sensibilisierten Tiere reagierten doch mit Krämpfen und erheblichen Temperaturabfällen, wenn sie auch überlebten. Die mit Sperma sensibilisierten und nachbehandelten Tiere dagegen zeigten fast gar keine Erscheinungen.

Am 16. III. 10 erhielt z. B. ein Meerschweinchen (3) iv. 1 ccm Forellenspermaextrakt konzentriert. 49 Tage später erhielt es iv. 2 ccm konzentrierten Spermaextrakt. Es reagierte nur mit schnell vorübergehenden fibrillären Zuckungen und einem Temperaturabfall von 1,6° C. 16 Minuten nach der Impfung fraß es schon wieder.

Nachdem ich solche Beobachtungen wiederholt gemacht hatte, gab ich meinen sämtlichen subkutan gegen Forellensperma sensibilisierten Tieren intravenös 1 ccm konzentriertes Forellensperma, worauf sie durchweg nur mit Temperaturabfällen reagierten, die unter 1° C lagen.

Die intravenös gegen Forellensperma sensibilisierten Tiere erhielten später intravenös zu verschiedenen Zeiten Forellen-Blutserum, Forellen-Rogen-, Forellen-Fleisch- und Forellen-Linsenextrakt, sowie auch Spermaextrakt. Dabei zeigte sich, daß die Tiere auf alle diese Antigene nur verhältnismäßig schwach reagierten, ausgenommen auf Forellen-Rogenextrakt. Dieser ließ die Tiere unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen erkranken und sterben.

Z. B. wurden am 1. IV. 10 die Meerschweinchen 53—58 subk. mit 0,1 ccm Forellen-Spermaextrakt und am 2. V. 10 iv. mit 1 ccm Forellenspermaextrakt behandelt, ohne nennenswert zu erkranken. 26 Tage später erhielt 53 iv. 3 ccm Forellensperma. Es zeigte nur leichte fibrilläre Zuckungen, sonst keine Erscheinungen, auch keinen Temperaturabfall.

Am 7. VI. 10 erhielt 54 iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. Es starb unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen sofort.

55 erhielt am 9. VI. 10 iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte einen Temperaturabfall von 1,8° C, sah zunächst etwas benommen aus, lief aber bald wieder munter umher. 21 Minuten später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 6 Minuten unter anaphylaktischen Erscheinungen.

Tabelle XI.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 53—58 am 1. IV. 10 subk. mit 0,1 ccm Forellen-Spermaextrakt und am 2. V. 10 iv. mit 1 ccm Forellen-Spermaextrakt konzentriert sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit nach iv. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
53	350	26 Tage		3 ccm Fo.-Sp.-E.	0	leichte fibr. Zuckung, überlebt
54	350	36 "		1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 1 Min.
55	400	38 "		1 " Fo.-Bl.-Se.	1,8	
			21 Min.	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 6 Min.

Um festzustellen, ob sich hier eine Verwandtschaftsreaktion zwischen dem Blutserum und dem Forellenrogen zeigen würde, wurde das Meerschweinchen 132, welches ähnlich sensibilisiert worden war wie die vorhergehenden Gruppen (9. IV. 10 subkutan $\frac{1}{2}$ ccm Forellensperma, am 2. V. 10 iv. 1 ccm Forellensperma) mit 1 ccm Forellen-Blutserum iv. nachbehandelt. Es zeigte einen Temperaturabfall von 1° C, sonst keine Erscheinungen. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogen und starb innerhalb 4 Minuten unter typischen Erscheinungen. Das Blutserum hatte also gegen Rogen nicht abzusättigen vermocht.

Ein Tier von derselben Gruppe (134) erhielt am 8. VI. 10 iv. 2 ccm Forellen-Spermaextrakt und reagierte nur mit schnell vorübergehenden fibrillären Zuckungen, die Temperatur fiel nicht.

Ein weiteres Tier der Gruppe (133) erhielt am 8. VI. 10 iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt. Es zeigte weder einen Temperaturabfall noch äußere Erscheinungen. Beide Tiere erhielten 3 Tage später iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starben innerhalb 3 bzw. 4 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Tabelle XII.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschw. 131—136 am 9. IV. 10 subk. mit $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Spermaextrakt und am 2. V. 10 iv. mit 1 ccm Forellen-Spermaextrakt sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit nach iv. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
131	380	37 Tage		2 ccm Fo.-Fl.-P.	0	leichte klon. Zuck.
			3 Tage	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 1 Min.
132	410	36 "		1 " Fo.-Bl.-Se.	1	keine
			2 "	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 4 Min.
133	410	37 "		1 " Fo.-Li.-E.	0	—
			3 "	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 3 Min.
134	370	37 "		2 " Fo.-Sp.-E.		leichte fibr. Zuck.
			3 "	1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 4 Min.
135	360	38 "		1 " Fo.-Ro.-E.		Sprungkr., † in 5 Min.

Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. VII.

31

Ich will nicht unerwähnt lassen, daß der Versuch bei einer anderen Gruppe von Tieren etwas anders verlief. Am 27. IV. 10 erhielten die Meerschweinchen 216—221 iv. 1 ccm Forellen-Spermaextrakt. Je ein Tier davon erhielt am 9. VI. 10, also nach 43 Tagen, iv. 1 ccm Forellenrogen (217) und 1 ccm Forellen-Blutserum (218). Das mit Forellenrogen nachbehandelte Tier drehte sich einige Minuten lang mit dem Kopfe schüttelnd fortgesetzt im Kreise umher. Die Temperatur war nicht abgefallen. Das Tier erholte sich bald vollständig. Das mit Blutserum behandelte Tier dagegen zeigte keinen Temperaturabfall oder sonstige Erscheinungen. Es ist anzunehmen, daß die noch überlebenden Tiere derselben Gruppe nach etwas längerer Zeit auf Injektion von Rogenextrakt unter anaphylaktischen Erscheinungen sofort sterben werden.

Die Tatsache, daß die gegen Fleisch und Sperma sensibilisierten Tiere auf Rogen stärker reagieren als auf Blutserum, möchte ich nicht als Ausdruck einer spezifischen Verschiedenheit auffassen, sondern auf die stärkere Reaktionskraft des Rogens zurückführen. Der Rogenextrakt hat bei allen meinen Versuchen eine stärkere Reaktionskraft gezeigt als das Blutserum.

Forellenlinsen.

Gegen Forellenlinsen wurden die Meerschweinchen 155—160 sensibilisiert (16. IV. 10 subkutan 1 ccm Forellen-Linsenextrakt 1:1). Da die Tiere sich am 2. V. 10 noch nicht genügend empfindlich erwiesen, so erhielten sie am 12. V. 10 sämtlich iv. 0,1 ccm Forellen-Linsenextrakt.

16 Tage später starb 156 auf 1 ccm Forellen-Linsenextrakt iv. innerhalb 7 Minuten unter typischen Erscheinungen.

159 erhielt am 7. VI. 10 iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und zeigte nur einen Temperaturabfall von $0,5^{\circ}$ C, sonst keine Erscheinungen.

160 erhielt am 8. VI. 10 iv. 1 ccm Forellen-Blutserum und reagierte mit einem Temperaturabfall von $0,5^{\circ}$ C. 3 Tage später erhielt das Tier iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt und starb innerhalb 4 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Tabelle XIII.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 155—160 am 16. IV. 10 subkutan mit 1 ccm Forellen-Linsenextrakt 1:1 und am 12. V. 10 iv. mit 0,1 ccm Forellen-Linsenextrakt sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit nach iv. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C.	Sympt.
156	280	16 Tage		1 ccm Fo.-Li.-E.		Krämpfe, † in 7 Min.
157	320	16 "		1 „ Rotaug.-Li.	1,2	läuft unruhig umher, erholt sich bald
159	430	26 "		1 „ Fo.-Ro.-E.	0,5	keine, überlebt
160	450	27 "		1 „ Fo.-Bl.-Se.	0,5	keine
			3 Tage	1 „ Fo.-Li.-E.		Sprungkr., † in 4 Min.

Die von Uhlenhuth nachgewiesene ausgesprochene Organspezifität der Linsen wurde mithin durch meine Versuche in vollem Umfange bestätigt.

Ein Meerschweinchen aus der eben besprochenen Gruppe (157) erhielt am 28. V. 10, also 16 Tage nach der intravenösen Sensibilisierung, 1 ccm Rotaugen-Linsenextrakt intravenös und zeigte außer vorübergehender Unruhe und einem Temperaturabfall von 1,2° C keine Symptome. Da ein ebenso vorbehandeltes und am selben Tage mit Forellenlinsen nachbehandeltes Tier (156) innerhalb weniger Minuten unter typischen Erscheinungen starb, so scheint bei diesem Versuch sich doch auch eine Artspezifität der Linsen geltend zu machen, wie sie auch schon von Krusius¹⁾ beobachtet worden ist. Ueber weitere ähnliche Ergebnisse werde ich später berichten.

Meine oben beschriebenen Versuche haben also mit Hilfe der anaphylaktischen Methodik eine ausgesprochene Organspezifität der Geschlechtszellen nicht ergeben. Eine solche kommt zwar bei Sensibilisierung mit sehr geringen Dosen scharf zum Ausdruck, bei Vorbehandlung mit größeren Dosen verwischen sich aber die Grenzen. Hier tritt dann die Artspezifität in den Vordergrund, denn die Tiere reagierten, wie ich gleich zu zeigen haben werde, auf entsprechende Organextrakte anderer Fische nicht. Namentlich aber erweist sich die Reaktionskraft der verschiedenen Organextrakte von ausschlaggebender Bedeutung. Am größten ist sie, wie schon erwähnt, bei den Rogenextrakten. Darauf folgt in ab-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, Heft 6, p. 699.

steigender Reihe das Blutserum, der Fleischpreßsaft und das Sperma. Die Linsen allein zeigten auch im anaphylaktischen Versuch eine strenge Organspezifität.

In diesem Zusammenhange möchte ich auf folgendes hinweisen. Die Herstellung eines hochwertigen Immunserums gelingt am leichtesten mit Hilfe des Rogenextraktes. Die von mir verwendeten Blutserumarten erforderten eine längere Behandlung der Kaninchen als es beim Rogen nötig war. Viel schwieriger war es, Immunserum gegen die von mir verwendeten Fleischeiweißarten herzustellen, und ein hochwertiges Sperma-Immunserum konnte ich, wie berichtet, überhaupt nicht gewinnen. Man wird nicht fehlgehen in der Annahme, daß sich hierin eine Bestätigung der Friedbergerschen Theorie über die Natur der Anaphylaxie dokumentiert.

Als dritter Faktor kommt die Inkubationszeit in Frage. Tiere von Gruppen, die anfänglich nur auf das homologe Organ reagierten, erwiesen sich später auch gegen die heterologen Organe empfindlich.

Die Tatsache, daß größere Mengen des Antigens, z. B. des Fischrogens, bei längerer Einwirkungsdauer eine Ueberempfindlichkeit auch gegen das Eiweiß heterologer Gewebestandteile, z. B. des Blutserums, auslösen, würde a priori die Deutung zulassen, daß der unbefruchtete Rogen das Blutserumeiweiß, sowie auch das Eiweiß der übrigen Organe zwar enthielte, jedoch in so geringen Mengen, daß zur Sensibilisierung erhebliche Antigenmengen und eine längere Inkubationszeit nötig wurde. Gegen eine solche Auffassung spricht aber mit aller Entschiedenheit folgende Beobachtung, auf die ich weiter unten noch zurückkommen werde.

Die Komplementablenkungsmethode gestattet in dem befruchteten und bebrüteten Ei den Nachweis des Blutserum-Eiweißes schon zu einer Zeit, wo das Vorhandensein von blutbildenden Organen und Blutkörperchen sich mikroskopisch noch nicht nachweisen läßt und wo auch die anaphylaktische Methode den Nachweis des Blutserums noch nicht ermöglicht. Die Komplementablenkungsmethode ist also, wenigstens in bezug auf die hier in Frage stehenden Antigene, feiner als die anaphylaktische Methode. Nun versagt aber bei dem un-

befruchteten Ei in bezug auf den Blutserumnachweis gerade die Komplementablenkungsmethode. Das Blutserum der Forelle ergibt mit dem Forellenrogen-Immunserum nicht die geringste Hemmung; umgekehrt gibt auch der Forellen-Rogenextrakt mit dem Forellenblut-Immunserum nicht die geringste Hemmung.

Das Blutserumeiweiß und, wie ich auf Grund meiner berichteten Befunde hinzufügen kann, auch die übrigen Antigene, wie Fleisch, Linsen etc., können hiernach in dem unbefruchteten Ei nicht präformiert vorhanden sein. Wenn also ein mit Forellen-Rogenextrakt vorbehandeltes Meerschweinchen sich unter den oben präzisierten Umständen gegenüber Forellen-Blutserum und den übrigen genannten Antigenen überempfindlich erweist, so kann dieses nur auf einen Abbauprozess zurückgeführt werden, der sich in dem Körper des Meerschweinchens abgespielt hat, und der die Organspezifität, d. h. die höchstentwickelte Eigenschaft des Antigens abstumpft, die Artspezifität, die auf einer niedrigeren, jedoch weniger labilen Stufe steht, hervortreten läßt, jedoch in einer ganz besonderen, gleich noch zu erörternden Weise.

Die Ergebnisse der beschriebenen Versuche habe ich inzwischen wiederholt mit denjenigen der Präzipitations- und Komplementablenkungsmethode in Vergleich gezogen. Hier reagierten die aufgezählten 5 Organextrakte stets wie völlig artfremd. In meiner ersten Veröffentlichung konnte ich schon darauf hinweisen, daß verhältnismäßig geringfügige Eingriffe genügten, um die Organspezifität zu beseitigen, während die Artspezifität bestehen blieb. So z. B. verschwand die Organspezifität schon, wenn man Extrakte bei 40° C im Vakuum eindampfte. Auch Zersetzungs Vorgänge wirkten nach dieser Richtung. Bemerkenswert scheint mir, daß die Extrakte eines heterologen Organs, z. B. Fleischeiweiß, selbst wenn sie einen typischen aber nicht tödlichen Anfall auslösen, nicht imstande sind, eine Antianaphylaxie gegen das Eiweiß des homologen Organs hervorzurufen, die sich nach 48 Stunden auch nur andeutungsweise gezeigt hätte. Es wird also in einem Meerschweinchen durch Injektion einer Substanz — die nach dem Ausfall der Komplementablenkungsmethode

als durchaus spezifisch erscheinen mußte — wenn man zur Sensibilisierung genügende Dosen verwendet und lange genug wartet, die Reaktionsfähigkeit auf verschiedene Antigene hervorgerufen, und zwar in solcher Weise, daß sie unabhängig nebeneinander bestehen, d. h. durcheinander nicht beeinflußt werden. Z. B. kann man durch Vorbehandlung mit Fleisch-eiweiß ein Tier empfänglich machen nicht nur gegen Forellen-Fleischeiweiß, sondern auch gegen Forellen-Blutserum und Forellenrogen. Nach Auslösung eines nicht tödlichen Anfalls durch eines dieser Antigene bleibt das Tier unverändert empfindlich gegen die beiden anderen Antigene.

Besonders bemerkenswert erscheint mir auch die Tatsache, daß die mit Sperma vorbehandelten Tiere sich nur gegen Rogen empfindlich zeigten, nicht aber gegen Forellen-Blutserum oder Sperma.

Die sehr labilen organspezifischen Substanzen erfahren also unter Umständen im Tierkörper eine Veränderung dahin, daß die art-spezifischen Eigenschaften neben den organspezifischen in Wirkung treten können, was bei den frischen Antigenen im Komplementablenkungsversuch nicht der Fall ist. Eine Ausnahme stellt die Linse ein, die auch im anaphylaktischen Versuch durchaus organspezifisch reagiert.

Nach den obigen Darlegungen erscheint die anaphylaktische Methode für die Feststellung der Organspezifität weniger geeignet als die Komplementablenkungsmethode. Anders scheinen die Verhältnisse bei bestehender Artverschiedenheit zu liegen. In meiner ersten Mitteilung konnte ich darauf hinweisen, daß das Fleischeiweiß sehr ungleicher Fische derselben Ordnung bei der Komplementablenkungs- und Präzipitationsmethode nahe Verwandtschaft zeigte. Diese dokumentierte sich bei der anaphylaktischen Methode nicht in demselben Maße, wie aus folgenden Befunden hervorgeht.

Die Meerschweinchen 169—175 waren am 23. IV. 10 mit 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft 1:20 (Eiweißgehalt 7 Proz.) sensibilisiert worden. 171 erhielt 24 Tage später iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte

Sprungkrämpfe und einen Temperaturabfall bis auf $31,1^{\circ}\text{C}$, starb aber erst über Nacht. Am 1. VI. 10 starb 174, das ebenfalls iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft erhalten hatte, innerhalb 2 Minuten unter typischen Erscheinungen.

172 erhielt nun iv. 1 ccm Preßsaft von Brassenfleisch (*Abramis brama* L.) von einem Eiweißgehalt von 5,8 Proz. Es zeigte nur einen Temperaturabfall von $0,3^{\circ}\text{C}$ ohne weitere Erscheinungen. Darauf erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Die Temperatur fiel bis 30°C und das Tier starb innerhalb 3 Stunden.

An demselben Tage erhielt 173 iv. 1 ccm Rotaugen-Fleischpreßsaft (*Leuciscus rutilus* L.) von einem Eiweißgehalt von 3,6 Proz. Es zeigte einen Temperaturabfall von 1°C und erschien dabei völlig munter. Darauf erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft und starb innerhalb 7 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Nach Neresheimer¹⁾ steht der Hecht (*Esox lucius* L.) den Salmoniden serobiologisch nahe.

Meerschweinchen 175 erhielt am 1. VI. 10 iv. 1 ccm Hecht-Fleischextrakt (Eiweißgehalt 2,4 Proz.). Es zeigte einen Temperaturabfall von $0,7^{\circ}\text{C}$ und fraß sofort wieder. 2 Tage später erhielt es iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte sofort Sprungkrämpfe, jedoch nur einen Temperaturabfall von $0,8^{\circ}\text{C}$ und überlebte.

In diesem Falle scheint es also zur Ausbildung eines anti-anaphylaktischen Zustandes gekommen zu sein, was als eine Bestätigung der Befunde Neresheimers gelten könnte, jedoch werde ich auf diesen Punkt gleich zurückzukommen haben.

169 erhielt am 17. V. 10 iv. 1 ccm Aal-Fleischpreßsaft, blieb munter und wurde bald darauf iv. mit 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft nachbehandelt. Es zeigte schnell vorübergehende krampfartige Zuckungen und einen Temperaturabfall von $0,5^{\circ}\text{C}$, erholte sich aber schnell wieder.

An demselben Tage erhielt 170 iv. 1 ccm Karpfen-Fleischpreßsaft (Eiweißgehalt 5,6 Proz.). Es zeigte vorübergehende Lähmungserscheinungen, leichte Zuckungen und einen Temperaturabfall von $2,2^{\circ}\text{C}$. Das Tier erholte sich schnell wieder und erhielt 5 Tage später iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft, worauf es keinerlei Symptome, und insbesondere auch keinen Temperaturabfall zeigte.

Das Fleisch dieser verschiedenartigen Fische rief also nennenswerte anaphylaktische Symptome nicht hervor. Rot-

1) Berichte aus der Kgl. Bayer. Biolog. Versuchsstation in München, Bd. 2, 1909, p. 79.

augen- und Brassenfleisch bewirkte auch keinen antianaphylaktischen Zustand, was Hecht-, Karpfen- und Aalfleisch anscheinend tat.

Tabelle XIV.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 169—175 am 23. IV. 10 subk. mit 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft 1:20 sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit n. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
169	450	24 Tge.	35 Min.	1ccm Aal-Fl.-P. 1 „ Fo.-Fl.-P.	0,2 0,5	benommen krampf. Zuck., Pruritus
170	440	24 „	5 Tge.	1 „ Karpf.-Fl.-P. 1 „ Fo.-Fl.-P.	2,2 0	Lähmungsersch., Seitenl. keine
171	460	24 „		1 „ Fo.-Fl.-P.	7,8	Zitterkr., † über Nacht
172	450	39 „	25 Min.	1 „ Brass.-Fl.-P. 1 „ Fo.-Fl.-P.	0,3 7,8	Zitterkr. Zitterkr., † in 3 Std.
173	400	39 „		1 „ Rotaug.-Fl.-P. 1 „ Fo.-Fl.-P.	1	schwache Zitterkr. Zitterkr., † in 7 Min.
174	420	39 „		1 „ Fo.-Fl.-P.		Sprungkr., † in 2 Min.
175	430	39 „	2 Tge.	1 „ Hecht-Fl.-E. 2 „ Fo.-Fl.-P.	0,7 0,8	Pruritus, frißt Sprungkr., gelähmt, überlebt

Im Zusammenhang mit obigen Feststellungen möchte ich über Ergebnisse berichten, die ich bei Tieren erhielt, die gegen Brassen- und Aalfleisch sensibilisiert worden waren.

Am 23. V. 10 wurden die Meerschweinchen 312—315 subkutan mit konzentriertem Brassen-Fleischpreßsaft (Eiweißgehalt 5,8 Proz.) sensibilisiert. 23 Tage später erhielt 312 iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft und starb in 5 Minuten unter typischen Erscheinungen. Am selben Tage erhielt 313 iv. 2 ccm Rotaugen-Fleischpreßsaft. Es zeigte einen Temperaturabfall von 3,8° C, Lähmungserscheinungen und klonische Krämpfe, erholte sich aber wieder und starb 48 Stunden später auf iv. Injektion von Brassen-Fleischpreßsaft. Auch hier wieder löst zwar ein heterologes Antigen einen starken Anfall aus, das Tier wird dadurch aber nicht antianaphylaktisch gegen das homologe.

Am 29. V. 10 wurden die Meerschweinchen 335—338 subk. mit 1 ccm konzentriertem Karpfen-Fleischpreßsaft sensibilisiert.

337 erhielt 25 Tage später iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es reagierte mit einem Temperaturabfall von 1,5° C und zeigte außer beschleunigter Atmung keine Erscheinungen.

338 erhielt ebenfalls 25 Tage später iv. 1 ccm unbefruchteten Forellenrogen. Er zeigte einen Temperaturabfall von 1,8° C, sonst keine Erscheinungen.

Bei diesen Versuchen gelang es wiederum, durch Vorbehandlung mit sehr großen Dosen die Tiere auch gegen heterologe Antigene, wie Brassen-serum und Brassenrogen so zu sensibilisieren, daß sie darauf mit typischen anaphylaktischen Erscheinungen reagierten und innerhalb weniger Minuten starben, wie aus Tabelle XV hervorgeht.

Tabelle XV.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 312—315 am 23. V. 10 subk. mit 2 ccm konzentriertem Brassen-Fleischpreßsaft sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit n. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
312	340	23 Tge.		2 ccm Fo.-Fl.-P.		klon. Krämpfe, † in 5 Min.
313	320	23 „	48 Std.	2 „ Rotaug.-Fl.-P.	3,8	klon. Krämpfe, gelähmt
314	480	28 „		2 „ Brass.-Fl.-P.		Zuck., † in 7 Min.
315	370	28 „		1 „ Brass.-Bl.-Se.		Sprungkr., † in 4 Min.
				1 „ Brass.-Ro.-E.		Krämpfe, Agonie, † in 7 Min.

Ganz ähnlich verliefen die Versuche bei Meerschweinchen, die mit Aalfleisch sensibilisiert worden waren. Sie starben auf intravenöse Reinjektion mit Rotaugen-, Brassen- und Forellenfleisch innerhalb weniger Minuten. Nach dem Verlauf dieses Versuches sollte man annehmen, man könnte Meerschweinchen gegen Forellenfleisch sicherer durch Aalfleisch als durch das homologe Antigen sensibilisieren.

Interessant dabei ist, daß eines dieser Tiere (319) nicht nur Forellensperma und Forellenrogen, sondern auch Forellen-Blutserum ohne Reaktion vertrug, selbst ohne Abfall der Temperatur und sich 2 Tage später gegen Forellenfleisch anti-anaphylaktisch zeigte. 24 Stunden später erhielt es intravenös 2 ccm Aal-Fleischpreßsaft und starb unter typischen Erscheinungen innerhalb 3 Minuten. Näheres über diesen Versuch enthält die Tabelle XVI.

Tabelle XVI.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 316—319 am 23. V. 10 subk. mit 2 ccm Aal-Fleischpreßsaft sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit n. Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. °C	Sympt.
316	270	23 Tge.		2 ccm Rotaug.-Fl.-P.		Zittern, Konvulsionen, † in 6 Min.
317	380	23 „		2 „ Brass.-Fl.-P.		Zittern, † in 2 Min.
318	370	28 „		2 „ Fo.-Fl.-P.		heftig. Zittern, Agonie, † in 2 Min.
319	350	28 „		1 „ Fo.-Sp.-E.	0,3	unruhig
			10 Min. 1 „ Fo.-Ro.-E.			
			3 1/2 Std. 1 1/2 ccm Fo.-Bl.-Se.		1,4	
			2 Tge. 2 ccm Fo.-Fl.-P.		0,6	Sprungkr., gelähmt
			24 Std. 2 „ Aal-Fl.-E.			Krämpfe, † in 3 Min.

Das Meerschweinchen 336 wurde am 29. V. 10 subk. mit 1 ccm Karpfen-Fleischpreßsaft (Eiweißgehalt 5,6 Proz.), sensibilisiert. 22 Tage später erhielt es intravenös 1 ccm Karpfen-Rogenextrakt. Es reagierte mit einem Temperaturabfall von 2,9° C, zeigte aber keine Krämpfe und schien nicht schwer krank zu sein. 48 Stunden später starb es auf intravenöse Injektion von 2 ccm Karpfen-Fleischpreßsaft innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Nach den früher berichteten Ergebnissen steht zu erwarten, daß die Gruppe, denen dieses Meerschweinchen angehörte, nach längerem Warten sich auch gegen Karpfenrogen hoch sensibilisiert erweisen wird.

Die Sensibilisierung von Meerschweinchen gegen das Blutserum der vorgenannten Fische führte zu folgenden Ergebnissen. Das Aal-Blutserum war wegen seiner Giftigkeit für Meerschweinchen für diese Versuche nicht zu verwenden.

Am 23. IV. 10 war eine Gruppe von Meerschweinchen (183—186) subkutan mit 0,1 ccm Forellen-Blutserum vorbehandelt worden.

44 Tage später erhielten 3 dieser Tiere iv. je 1 ccm Hecht-, Karpfen- und Rotaugen-Blutserum. Das mit Hecht-Blutserum injizierte Tier (183) zeigte einen Temperaturabfall von 0,2° C und schnell vorübergehende Lähmungserscheinungen.

Das mit Karpfen-Blutserum behandelte Tier (184) zeigte einen Temperaturabfall von 1° C und keine weiteren Symptome, das mit Rotaugen-

Blutserum behandelte Tier (185) einen Temperaturabfall von $0,7^{\circ}\text{C}$ und schnell vorübergehende Zitterkrämpfe. Auf iv. Injektion (2 Tage später) von 1 ccm Forellen-Blutserum starben alle 3 Tiere innerhalb 5 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Tabelle XVII.

Aktive Anaphylaxie.

Meerschweinchen 183—186 am 23. IV. 10 subkutan mit 0,1 ccm Forellen-Blutserum sensibilisiert.

M.-Schw. No.	Gew. g	Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. $^{\circ}\text{C}$	Sympt.
183	350	44 Tage	15 Min.	1 ccm Hecht-Bl.-Se. 1 „ Fo.-Bl.-Se.	0,2	Zitterkr., gelähmt Sprungkr., † in 5 Min.
184	380	44 „	2 Tage	1 „ Karpf.-Bl.-Se. 1 „ Fo.-Bl.-Se.	1	keine Sprungkr., † in 5 Min.
185	400	44 „	2 „	1 „ Rotaug.-Bl.-Se. 1 „ Fo.-Bl.-Se.	0,7	starke Zitterkr. Seitenlage, † in 6 Min.
186	390	44 „	2 „	1 „ Hecht-Ro.-E. 1 „ Fo.-Bl.-Se.	0	keine Sprungkr., † in 9 Min.

Diese Befunde bestätigen meine schon früher gewonnene Auffassung, daß die Artverschiedenheit sich in dem Blutserum stärker dokumentiert, als in dem Fleischiweiß.

Ebenso liegen die Verhältnisse anscheinend für die Geschlechtszellen, insbesondere für den Rogen. Meerschweinchen, welche gegen Forellenrogen hoch empfindlich waren, reagierten auf intravenöse Injektion von Brassenrogen (*Abramis brama* L.), Karpfen- (*Cyprinus carpio* L.) und Rotaugenrogen (*Leuciscus rutilus* L.) kaum nennenswert, schon bald nach der Injektion fraßen sie. Einen Temperaturabfall zeigte nur das Tier (254), das mit Rotaugenrogen reinjiziert wurde, und zwar um 1°C . Auf Injektion von Forellenrogen starben die Tiere unter typischen Symptomen innerhalb weniger Minuten. Anders verlief die Reaktion bei einem Tier (274), das 31 Tage nach der Sensibilisierung mit Forellenrogen mit 1 ccm Heringrogen (*Clupea harengus*) reinjiziert wurde. Das Tier zeigte einen Temperaturabfall von $2,4^{\circ}\text{C}$, und als es 48 Stunden später intravenös 1 ccm Forellen-Rogenextrakt erhielt, starb es nicht. Die Temperatur fiel aber von $37,4$ auf 30°C .

Ein Tier (273), das ebenfalls 31 Tage nach der Sensibilisierung intravenös 1 ccm Hecht-Rogenextrakt (*Esox lucius* L.) erhielt, zeigte einen Temperaturabfall von 2° C und geringe Lähmungserscheinungen. Es fraß nach einer Viertelstunde wieder, starb aber nach Ablauf von 48 Stunden.

Umgekehrt reagierten auch Tiere, die gegen Rogen artfremder Fische, wie Karpfen, sensibilisiert waren, nicht nennenswert auf Reinjektion von Forellenrogen. Das Meerschweinchen 345, das am 30. V. 10 iv. mit 1 ccm Karpfen-Rogenextrakt sensibilisiert wurde, erhielt nach 23 Tagen iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt. Es zeigte einen Temperaturabfall von 1,2° C, sonst keine Erscheinungen. 3 Tage darauf starb es auf iv. Injektion von 1 ccm Karpfen-Rogenextrakt innerhalb 3 Minuten unter typischen anaphylaktischen Erscheinungen.

Eingehendere Mitteilungen über die Einzelheiten meiner hierhergehörigen Versuche würden an dieser Stelle zu weit führen.

Tabelle XVIII.
Aktive Anaphylaxie.

M.-Schw. No.	Gew. g	Sens.	Zeit nach Sens.	Nach vorher. R.-I.	R.-I. iv.	T.-A. ° C	Sympt.
115	460	7. IV. 10 subk. 1/2 ccm Fo.- Ro.-E. 1:100	44 Tge.		2 ccm Frosch- Ro.-E.	0	frißt sogleich
				26 Min.	1 ccm Brass.- Ro.-E.	0,8	benommen
				23 „	1 ccm Fo.- Ro.-E.		Sprungkr., † in 2 Min.
254	410	7. V. 10 iv. 1/2 ccm Fo.-Ro.-E.	16 „		1 ccm Rotaug.- Ro.-E.	1	keine
				20 „	1 ccm Fo.- Ro.-E.		gelähmt, Sei- tenlage, † in 5 Min.
272	350	18. V. 10 iv. 1/2 ccm Fo.-Ro.-E.	31 „		1 ccm Karpf.- Ro.-E.	0	benommen, l. gelähmt
				48 Std.	1 ccm Fo.- Ro.-E.		Zuck., Agonie, † in 28 Min.
273	360	dgl.	31 „		1 ccm Hecht- Ro.-E.	2	Hinterbeine et- was gelähmt, † nach 48 Std.
274	300	dgl.	31 „		1 ccm Hering- Ro.-E.	2,4	Seitenlage
				48 „	1 ccm Fo.- Ro.-E.	7,4	heft. Krämpfe, überlebt

Versuche mit befruchteten Forelleneiern.

Nachdem ich oben dargelegt habe, inwieweit mir die anaphylaktische Methodik für den Nachweis der Organspezifität anwendbar erscheint, möchte ich nunmehr Versuchen näher-treten, die ich mit künstlich befruchteten Forelleneiern ausgeführt habe, welche bis zu dem Ausschlüpfen der kleinen Fische und bis zum völligen Verschwinden des Dottersackes bebrütet worden waren.

Nachdem ich festgestellt hatte, daß das unbefruchtete Ei, nach der Präzipitations- und Komplementablenkungsmethode geprüft, eine einheitliche Reaktion nur auf das homologe Eier-eiweiß, nicht aber auf die anderen Organe desselben Tieres gibt, stellte ich zunächst fest, daß sich 24 Stunden nach erfolgter Befruchtung in diesem spezifischen Verhalten der Reaktion nichts geändert hatte. Mit der Entwicklung des Embryos mußten aber andere Reaktionen, wie die auf Blutserum, Fleisch und Linsen, allmählich in Erscheinung treten. Es mußten also aus einer serobiologisch einheitlich reagierenden mütterlichen Zelle sich Tochterzellen entwickeln, die wie artfremdes Eiweiß reagierten. Bei den Forelleneiern konnte man diesen Vorgang sozusagen unter den Augen verfolgen. 25 Tage nach erfolgter Befruchtung wurden in den Eiern Blutgefäße sichtbar, und man konnte rote Blutkörperchen mikroskopisch nachweisen. Eine Woche vorher aber fiel die Reaktion auf Blutserum nach der Komplementablenkungsmethode schon positiv aus. Näheres über diese Vorgänge findet sich bei der nachstehenden Beschreibung der einzelnen Versuche. Die Reaktion auf Rogeneiweiß blieb vorherrschend, so lange noch Spuren des Dottersackes an den ausgeschlüpfen Fischchen zu sehen waren. Im einzelnen ist über die in Frage stehenden Versuche folgendes zu berichten.

Am 4. IV. 10 wurde laichreifen Regenbogenforellen (*Trutta iridea*) der Rogen abgestreift, mit Sperma verrührt und bei einer Temperatur von 8—9° C bebrütet. Am Tage darauf wurde etwa der 10. Teil des befruchteten Rogens entnommen. In Perioden von je einer Woche wurde die Bebrütung bei einer weiteren, etwa gleich großen Portion der befruchteten Eier unterbrochen. Der Versuch zog sich bis zum 8. VI. 10 hin.

Ueber die makroskopischen und mikroskopischen Befunde der Eier wurden jedesmal Aufzeichnungen gemacht, außerdem wurde jede Portion der Eier photographiert, gezeichnet und ein Teil in $\frac{1}{2}$ -proz. Karbolsäure konserviert, um etwaige spätere Vergleiche zu ermöglichen. Im ganzen wurden 10 Partien der befruchteten Eier untersucht.

Die Eier wurden nach gründlicher Waschung im Mörser zerrieben, mit gleichen Teilen Wasser versetzt, 2 Stunden bei 37° C extrahiert, dann 2 Stunden im Schüttelapparat behandelt.

Für die Präzipitation und Komplementablenkung stand mir ein Forellen-Blutimmunserum von dem Titer 1:1000 zur Verfügung und ein Forellen-Rogenimmunserum von dem Titer 1:10000. Ein hochwertiges Forellen-Fleischimmunserum habe ich noch nicht gewinnen können, obgleich ich 9 Kaninchen mit Extrakten bzw. Preßsäften aus Forellenfleisch lange Zeit hindurch behandelt habe. Ich mußte mich mit einem Serum von dem Titer 1:100 begnügen. Wie wir noch sehen werden, reagierten aber die jungen Forellen gegen dieses selbe Serum etwa 5mal so stark. Ob das Fleischeiweiß bei diesen eine stärkere Reaktionskraft habe, als bei älteren Fischen, oder ob es sich um einen störenden Einfluß der Lipoiden handele, lasse ich dahingestellt sein.

Auf die Herstellung eines Spermaimmunserums habe ich von vornherein verzichtet, im Hinblick auf die wenig befriedigenden Ergebnisse, die ich im vorigen Jahre hatte.

Bei den längere Zeit hindurch bebrüteten Forelleneiern treten unspezifische Hemmungen im Komplementablenkungsversuch störend in Erscheinung. Die Menge der rötlichen Lipoiden, die schon bei den unbefruchteten Eiern vorhanden sind, und durch welche das Ei in der richtigen Stellung gehalten wird, vermehrte sich im Laufe der Zeit erheblich. Die störenden Einflüsse kann man durch Abschöpfen des Fettes nach Zentrifugieren des Extraktes aber beseitigen. Nur bei den letzten Portionen der schon ausgeschlüpfen Fische gelang es nicht so leicht, diese störenden Einflüsse auszuschalten.

Bei der Präzipitation, die mit der Ueberschichtungsmethode ausgeführt wurde, bedeutet + eine eben sichtbare Ringbildung, ++ deutliche Trübung, +++ starke Trübung. Bei der

Präzipitations- und Komplementablenkungsmethode stellen die unten angegebenen Werte die Verdünnungen des beschriebenen Originalextraktes dar.

Bei den anaphylaktischen Versuchen wurden die zur Sensibilisierung benutzten Dosen auf Grund der inzwischen gemachten Erfahrungen später erhöht. Schließlich ging ich zur iv. Sensibilisierung über.

Befruchteter Rogen nach 24-stündiger Bebrütung (I).

Präzipitation: Gegen Forellen-Blutimmunserum 1:20 0, gegen Forellen-Fleischimmunserum 1:20 0, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:1000 ++++. Auch 1:5000 und 1:10000 präzipitierte der Extrakt noch mit Rogenimmunserum. Ich habe aber hier, wie auch bei den späteren Proben, die höchste geprüfte Verdünnung angeführt, die noch sofort eine starke Niederschlagbildung gab.

Komplementablenkung: Gegen Forellen-Blutimmunserum in der Verdünnung 1:10 fast komplett, gegen Forellen-Fleischimmunserum in der Verdünnung 1:10 fast komplett, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:10000 vollständige Ablenkung.

Die Bezeichnung fast komplett ist gewählt worden, selbst wenn ein nur eben sichtbarer Bodensatz vorhanden war.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 112—118 erhielten am 7. IV. 10 subkutan 0,005 ccm des befruchteten Rogens I.

Am 2. V. 10 erhielt 112 iv. $\frac{1}{4}$ ccm unbefruchteten Forellenrogen. Das Tier hatte nur einen Temperaturabfall von $0,3^{\circ}$ C und zeigte außer Unruhe und gesträubten Haaren keine ausgesprochenen Symptome, es fraß schon nach einer halben Stunde wieder. 113 erhielt 33 Tage später iv. eine gleiche Dosis unbefruchteten Forellenrogen. Es zeigte einen Temperaturabfall bis unter 30° C und starb über Nacht. 114 starb am 10. V. 10 auf iv. Injektion von $\frac{1}{4}$ ccm unbefruchtetem Forellenrogen innerhalb 4 Minuten unter typischen Symptomen.

Am 19. V. 10 wurde das Meerschweinchen 112, das die Reinjektion mit Rogen am 2. V. 10 überstanden hatte, entblutet. 2 Meerschweinchen (302 und 303) erhielten iv. je 3 ccm des Serums.

24 Stunden später erhielt das Tier 302 iv. 1 ccm unbefruchteten Forellenrogen. Es starb unter typischen Symptomen innerhalb einer Minute. 303 erhielt iv. 1 ccm Forellen-Fleischextrakt: kein Temperaturabfall, keine Symptome. Darauf erhielt es iv. 1 ccm Forellenblutserum: $1,2^{\circ}$ C Temperaturabfall, keine Symptome. Nach 22 Minuten erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogen unbefruchtet und starb innerhalb 5 Minuten.

Dieser Versuch ist für die Entscheidung der Frage, ob der Rogen 24 Stunden nach der Befruchtung Antigene enthielte, die auf Forellenblut oder Fleisch reagierten, nicht ohne weiteres zu verwenden, da das Tier 112 durch den befruchteten Rogen nicht genügend sensibilisiert war, die passiv

anaphylaktische Reaktion also auf die erste Reinjektion mit unbefruchtetem Rogen zurückzuführen ist. Darauf weist auch der nachfolgende Versuch hin.

4 Tage später wurden 116 und 117 entblutet, die inzwischen nicht nachinjiziert worden waren. Selbst $2\frac{1}{2}$ ccm Blutserum von diesen Tieren genügte nicht zur Auslösung passiver Anaphylaxie.

115 erhielt am 21. V. 10 zwecks nochmaliger Feststellung der Spezifität des Eiereiweißes iv. 2 ccm Extrakt aus Froschrogen: Temperaturabfall $0,8^{\circ}\text{C}$, fraß aber sofort wieder. Darauf erhielt es iv. 1 ccm Brassen-Rogenextrakt: Temperaturabfall $0,8^{\circ}\text{C}$. Das Tier sah etwas benommen aus, nach $\frac{1}{4}$ Stunde war die Ausgangstemperatur wieder erreicht. Jetzt erhielt das Tier iv. 1 ccm unbefruchteten Forellen-Rogenextrakt. Es starb innerhalb 2 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Forellenrogen nach 9-tägiger Bebrütung (II).

Präzipitation: Gegen Forellen-Blutimmunserum 1:10 0, gegen Forellen-Fleischimmunserum 1:10 0, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:1000 +++.

Komplementablenkung: Gegen Forellen-Blutimmunserum 1:100 komplett, gegen Forellen-Fleischimmunserum 1:20 fast komplett, 1:100 komplett, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:10000 0 (vollständige Hemmung).

Die stärkeren Konzentrationen des Antigens, soweit sie auch mit Normalserum hemmten, habe ich bei diesem Versuch, wie auch bei den übrigen nicht mit erwähnt. Berichtet ist nur über solche Versuche, bei denen die mit Normalserum angesetzten Kontrollen keine Hemmung zeigten.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 276—279 wurden am 18. V. 10 iv. mit $\frac{1}{2}$ ccm befruchtetem Forellenrogen II sensibilisiert.

276 erhielt 27 Tage später iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte einen Temperaturabfall von $0,8^{\circ}\text{C}$, hatte vorübergehend gesträubtes Haar, sonst keine Symptome. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm unbefruchteten Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Da die übrigen Antigene, wie oben berichtet, eine geringere Reaktionskraft zeigen als das Forellenblut, so habe ich es als aussichtslos erachtet, jetzt schon weitere Prüfungen damit anzustellen, mich vielmehr entschlossen, den Versuch nach längerer Zeit zu wiederholen.

Trotz der großen Dosis, die iv. zur Sensibilisierung verwendet wurde, ließ sich also die Anwesenheit eines Antigens, das auf Forellen-Blutserum reagierte, in den Forelleneiern nach 9-tägiger Bebrütung im anaphylaktischen Versuch nicht nachweisen, dieser deckt sich also mit dem Ergebnis der Komplementablenkung.

Forellenrogen nach 16-tägiger Bebrütung (III).

Präzipitation: Gegen Forellen-Blutserum 1:10 0, gegen Forellen-Fleischimmun-Ser. 1:10 0, gegen Forellen-Rogenimmun-Ser. 1:1000 + + +.

Komplementablenkung: Gegen Forellen-Blutimmunserum 1:10 0, 1:100 Spur bis halb gelöst, 1:500 komplett, gegen Forellen-Fleischimmunserum 1:10 komplett, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:10 000 vollständige Ablenkung.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 190—193 wurden am 24. IV. 10 subkutan mit 0,05 ccm Extrakt von Forellenrogen III sensibilisiert. 15 Tage später starb 190 auf iv. Verabreichung von 2 ccm unbefruchtetem Forellenrogen innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Am 23. Tage nach der Sensibilisierung erhielt 191 zunächst iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft (Eiweißgehalt 7 Proz.), Temperaturabfall 0,8° C. Das Tier fraß sofort wieder. Darauf erhielt es iv. $\frac{1}{2}$ ccm unbefruchteten Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 4 Minuten unter typischen Erscheinungen.

193 erhielt am 23. Tage iv. 1 ccm Forellen-Spermaextrakt. Es zeigte keine Symptome. Darauf erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Linsenextrakt: keine Symptome. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogen unbefruchtet und starb innerhalb 34 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Ebenfalls am 23. Tage erhielt 192 iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum: Temperaturabfall 1,1° C, das Tier fraß sofort wieder. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogen unbefruchtet. Es starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Veranlaßt durch den unerwarteten Verlauf dieses Versuches sensibilisierte ich am 18. V. 10 die Meerschweinchen 280—283 iv. mit $\frac{1}{2}$ ccm konzentriertem Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen III. 33 Tage später erhielt 280 iv. $1\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte nur einen Temperaturabfall von 0,3° C und keine weiteren Erscheinungen. 48 Stunden später erhielt es iv. 1 ccm Extrakt von unbefruchtetem Forellenrogen. Es reagierte mit Sprungkrämpfen und einem Temperaturabfall von 4,6° C. Nach $\frac{3}{4}$ Stunden war es aber wieder völlig munter.

Die übrigen Tiere dieser Gruppe beabsichtige ich erst nach längerer Zeit zu reinjizieren, um festzustellen, ob es wirklich nicht möglich sein sollte, die Blutserumbestandteile, die nach dem Ausfall der Komplementablenkungsmethode in diesem Extrakt vorhanden sein müssen, auf anaphylaktischem Wege nachzuweisen.

Resultat: Die mikroskopische Untersuchung ergibt noch nicht die Anwesenheit von Blutelementen. Trotzdem zeigt die Komplementablenkungsmethode schon einen Ausschlag,

der auf die Anwesenheit von Blut deutet, nicht aber auf Fleisch. Weder die Präzipitation noch die anaphylaktische Methode ergibt auf Blut oder Fleisch eine Reaktion.

Forellenrogen nach 23-tägiger Bebrütung (IV).

Während die befruchteten Eier bis dahin makroskopisch und unter der Lupe keine nennenswerten Veränderungen aufwiesen, sind jetzt bei einzelnen der Eier große Blutgefäße und das pulsierende Herz zu erkennen, sonst aber keine wohldefinierten Organe.

Präzipitation: Gegen Forellen-Blutimmunserum 1:10 +, 1:100 0, gegen Forellen-Fleischimmunserum 1:10 +, 1:100 0, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:1000 +++.

Komplementablenkung: Gegen Forellen-Blutimmunserum 1:100 vollständige Ablenkung, 1:1000 halb komplett, gegen Forellen-Fleischimmunserum 1:100 vollständige Ablenkung, gegen Forellen-Rogenimmunserum 1:5000 vollständige Ablenkung.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 244—247 wurden am 2. V. 10 subkutan mit $\frac{1}{2}$ ccm konzentriertem Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen IV sensibilisiert. 17 Tage später erhielt 244 iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum: Temperaturabfall $1,2^{\circ}$ C, sonst keine Symptome. Darauf erhielt es iv. 1 ccm unbefruchteten Forellenrogen und starb innerhalb 3 Minuten unter typischen Erscheinungen.

245 erhielt am selben Tage iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte keinen Temperaturabfall und keine Symptome. Auf iv. Injektion von 1 ccm unbefruchtetem Forellenrogen starb es innerhalb 8 Minuten unter typischen Erscheinungen.

246 erhielt am selben Tage iv. 1 ccm Forellen-Fleischextrakt: Temperaturabfall $0,8^{\circ}$ C, sonst keine Symptome. 2 Tage später erhielt es iv. 1 ccm unbefruchteten Forellen-Rogenextrakt. Es starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

247 erhielt auch am 19. V. 10 iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte einen Temperaturabfall von $8,1^{\circ}$ C und starb in der Nacht. Krämpfe waren nicht aufgetreten.

Resultat: Zu einer Zeit, wo das Vorhandensein des Blutes sich mikroskopisch und makroskopisch nachweisen läßt, ergibt auch die Präzipitation ein positives Resultat, jedoch nur in starken Konzentrationen. Die Komplementablenkung gibt einen höheren Ausschlag auf Blut als in der Woche vorher. Der anaphylaktische Versuch läßt bei 2 Tieren eine Reaktion auf Blut fast vollständig vermissen, während ein drittes Tier sich gegen Forellen-Blutserum sensibilisiert erweist, jedoch nicht so hochgradig, wie die übrigen Tiere gegen

Rogen. Die Anwesenheit des Fleischeiweißes wird um diese Zeit angezeigt in hohen Konzentrationen durch die Präzipitation, jedoch schon in größeren Verdünnungen durch die Komplementablenkungsmethode. Die anaphylaktische Methode versagt in bezug auf Fleisch vollständig.

Forellenrogen nach 30-tägiger Bebrütung (V).

Die Eier sind um diese Zeit soweit entwickelt, daß die schwarzen Augenpunkte makroskopisch deutlich erkennbar sind. Dieser Zeitpunkt ist insofern von praktischer Bedeutung, als der Fischzüchter mit dem Auftreten der Augenpunkte die Lebensfähigkeit und zugleich auch die Versandfähigkeit der Eier feststellen kann.

Präzipitation: Gegen Forellen-Blut-Immunserum 1:100 ++, gegen Forellen-Fleisch-Immunserum 1:10 und 1:100 +, gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:1000 +++.

Komplementablenkung: Gegen Forellen-Blut-Immunserum 1:500 vollständige Ablenkung, 1:1000 Spur gelöst; gegen Forellen-Fleisch-Immunserum 1:100 vollständige Ablenkung, 1:200 halb gelöst; gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:5000 vollständige Ablenkung.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 254—257 wurden am 7. V. 10 iv. mit $\frac{1}{2}$ ccm konzentriertem Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen V sensibilisiert. 16 Tage später starb ein Tier auf iv. Injektion von 1 ccm unbefruchtetem Forellen-Rogenextrakt innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Am 25. Tage erhielt 256 iv. $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte einen Temperaturabfall von nur $0,8^{\circ}$ C und blieb munter. Auf iv. Nachinjektion von 1 ccm Forellenrogen starb es innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Am selben Tage erhielt 255 iv. 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte einen Temperaturabfall von 1° C, blieb munter und starb auf iv. Injektion von 1 ccm unbefruchtetem Forellenrogen innerhalb 2 Minuten unter typischen Erscheinungen.

257 erhielt erst 37 Tage nach der Sensibilisierung iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte nur einen Temperaturabfall von $0,9^{\circ}$ C, erholte sich anscheinend schnell wieder, starb aber einige Stunden später.

Resultat: Der Embryo ist um diese Zeit soweit entwickelt, daß die Präzipitation auf Blut und Fleisch einen deutlichen Ausschlag gibt. Die Komplementablenkungsmethode zeigt einen größeren Gehalt von Blut an als in der Woche vorher. Der anaphylaktische Versuch dagegen läßt noch das Vorwiegen der ursprünglichen Substanz des mütterlichen Eies

32*

erkennen. Auf Forellenfleisch zeigen die mit diesem Rogen sensibilisierten Tiere eine sehr geringe Reaktion. Gegen Forellenblut erweisen sich die Tiere 24 Tage nach der Sensibilisierung noch kaum empfindlich und auch am 37. Tage noch nicht so hoch empfindlich wie gegen Rogen.

Forellengen nach 37-tägiger Bebrütung (VI).

Um diese Zeit sind die kleinen Fische aus dem Ei ausgeschlüpft, zeigen aber am Bauch noch einen großen Dottersack. Es interessierte also die Frage, ob die Rogenreaktion auch jetzt noch vorherrschen würde und ob nicht die Tierchen jetzt genügend Blutserum enthalten würden, um beim anaphylaktischen Versuch eine stärkere Reaktion zu geben.

Präzipitation: Gegen Forellen-Blut-Immunserum 1:20 +, 1:100 0, gegen Forellen-Fleisch-Immunserum 1:20 +, 1:100 0, gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:1000 +++.

Komplementablenkung: Gegen Forellen-Blut-Immunserum 1:100 vollständige Ablenkung, 1:500 Spur gelöst, 1:1000 komplett; gegen Forellen-Fleisch-Immunserum 1:100 vollständige Ablenkung; gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:5000 vollständige Ablenkung.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 258—261 wurden am 14. V. 10 iv. mit $\frac{1}{2}$ ccm konzentriertem Extrakt aus befruchtetem Forellengen VI sensibilisiert. 18 Tage später reagierte 258 auf iv. Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum nur mit $1,4^{\circ}$ C, sonst blieb es munter. Auf iv. Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm unbefruchtetem Forellengen starb es sofort unter typischen Erscheinungen.

259 erhielt am selben Tage 1 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte einen Temperaturabfall von $0,2^{\circ}$ C und fraß sofort. 2 Tage später starb es auf iv. Injektion von 1 ccm Forellen-Rogenextrakt innerhalb 1 Minute. Um dieses interessante Verhalten sicherzustellen, erhielt 260 am 3. VI. 10 iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte einen Temperaturabfall von $0,6^{\circ}$ C, klonische Zuckungen und Zitterkrämpfe, erholte sich aber wieder. 2 Tage später ging es auf iv. Injektion von 1 ccm unbefruchtetem Forellen-Rogenextrakt innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen ein.

Gleichzeitig hatte 261 iv. 1 ccm Forellen-Blutserum erhalten. Es zeigte einen Temperaturabfall von $2,3^{\circ}$ C und leichte Krämpfe, erholte sich aber schnell wieder und starb 2 Tage später auf iv. Injektion von 1 ccm unbefruchtetem Forellen-Rogenextrakt innerhalb 8 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Resultat: Die Rogenreaktion überwiegt auch in diesem Stadium noch alle anderen Reaktionen. Im anaphylaktischen

Versuch gehen die Blut-, Fleisch- und Rogenreaktionen anscheinend vollständig unabhängig nebeneinander her, selbst ein ausgesprochener anaphylaktischer Anfall auf Injektion von Blut oder Fleisch ruft keine Antianaphylaxie gegen Rogen hervor.

Forellenrogen nach 44-tägiger Bebrütung (VII).

An den Fischchen läßt sich um diese Zeit der Dottersack noch deutlich erkennen. Dementsprechend überwiegt auch jetzt noch die Rogenreaktion. 1:5000 gibt bei der Komplementablenkung noch vollständige Ablenkung. Gegen Blut-Immunserum 1:100 vollständige Ablenkung, 1:500 Spur gelöst.

Präzipitation: Gegen Forellen-Blut-Immunserum 1:20 +, 1:100 +, gegen Forellen-Fleisch-Immunserum 1:20 +, 1:100 0; gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:1000 +++.

Anaphylaktischer Versuch: Die Meerschweinchen 304—307 wurden am 20. V. 10 iv. mit $\frac{1}{4}$ ccm konzentriertem Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen VII sensibilisiert.

306 und 307 starben spontan.

305 erhielt am 18. VI. 10 (29 Tage) iv. $1\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum. Es reagierte mit einem Temperaturabfall von nur $0,2^{\circ}$ C und zeigte keine Symptome. 48 Stunden später erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogen und starb innerhalb 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Forellenrogen nach 51-tägiger Bebrütung (VIII).

Der Dottersack ist an den Fischchen kaum noch zu sehen.

Dementsprechend ergibt die Komplementablenkung mit Forellenrogen nur noch 1:500 vollständige Ablenkung. Auffallenderweise ergab der Extrakt mit Fleisch-Immunserum 1:500 vollständige Ablenkung, während bei erwachsenen Fischen dasselbe Serum nur 1:100 vollständig ablenkte. Weiter oben habe ich schon die Frage aufgeworfen, ob dieses als der Ausdruck einer größeren Reaktionskraft des jungen Fleisches zu deuten wäre. Mit Blut-Immunserum gibt der Extrakt 1:1000 jetzt vollständige Ablenkung.

Präzipitation: Gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:1000 +++.

Anaphylaktischer Versuch. Am 28. V. 10 wurden die Meerschweinchen 331—334 subk. mit $\frac{1}{4}$ ccm Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen VIII sensibilisiert.

331 erhielt 17 Tage später iv. 1 ccm Forellen-Blutserum. Es zeigte einen Temperaturabfall von nur $1,3^{\circ}$ C und erholte sich schnell wieder. Am 22. VI. 10 reagierte es auf iv. Injektion von 1 ccm Forellenrogen mit Sprungkrämpfen und einem Temperaturabfall bis unter 30° C. Es starb in der darauffolgenden Nacht.

332 erhielt am 18. VI. 10 (21 Tage) iv. $1\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum. Es starb innerhalb 4 Minuten unter typischen Erscheinungen.

333 erhielt am selben Tage 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte Zitterkrämpfe und lag gelähmt auf dem Bauch. Es zeigte aber nur einen Temperaturabfall von $1,4^{\circ}$ C und erholte sich innerhalb 1 Stunde vollständig wieder. 4 Tage später erhielt es iv. 1 ccm Forellen-Rogenextrakt und starb innerhalb 2 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Forellenrogen nach 58-tägiger Bebrütung (IX).

Die Tiere weisen immer noch Reste des Dottersackes auf.

Der Extrakt lenkt aber jetzt gegen Rogen-Immunserum nur noch in der Verdünnung 1:100 vollständig ab, gegen Fleisch-Immunserum ergibt der Extrakt 1:500 wieder vollständige Ablenkung. Die Blutreaktion fällt etwas schwächer aus als bei der vorherigen Prüfung.

Präzipitation: Gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:1000 +.

Anaphylaktischer Versuch: Am 6. VI. 10 wurde eine Gruppe von Meerschweinchen subk. mit $\frac{1}{2}$ ccm Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen IX sensibilisiert. 14 Tage später starb eines dieser Tiere (375) auf iv. Injektion von $1\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum innerhalb 5 Minuten unter anaphylaktischen Erscheinungen.

376 erhielt 17 Tage später iv. 1 ccm unbefruchteten Forellenrogen. Es reagierte mit Sprungkrämpfen und starb innerhalb 2 Minuten.

377 erhielt ebenfalls 17 Tage später 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es reagierte mit einem Temperaturabfall von $3,4^{\circ}$ C und erschien schwer krank, erholte sich aber nach $2\frac{1}{2}$ Stunden wieder. 48 Stunden später erhielt es iv. 1 ccm Forellenrogen und starb innerhalb 3 Minuten unter typischen Erscheinungen.

Forellenrogen nach 65-tägiger Bebrütung (X).

Nach 65 Tagen endlich ist der Dottersack vollständig verschwunden.

Präzipitation: Gegen Forellen-Rogen-Immunserum 1:10 0.

Die Komplementablenkung gibt jetzt in Konzentration von 1:100 gegen Rogen keine vollständige Ablenkung mehr, nur noch in der Verdünnung 1:10.

Anaphylaktischer Versuch:

Auch der anaphylaktische Versuch ergibt jetzt das Fehlen der Rogenbestandteile.

Am 14. VI. 10 wurde eine Gruppe von Meerschweinchen subk. mit $\frac{1}{2}$ ccm Extrakt aus befruchtetem Forellenrogen X sensibilisiert. 16 Tage später starb eines dieser Tiere (384) auf iv. Injektion von $1\frac{1}{2}$ ccm Forellen-Blutserum innerhalb 4 Minuten unter anaphylaktischen Erscheinungen.

385 erhielt 28 Tage nach Sensibilisierung iv. 1 ccm unbefruchteten Forellenrogen. Es blieb vollständig munter und fraß schon nach 5 Minuten wieder.

386 erhielt 29 Tage nach Sensibilisierung iv. 2 ccm Forellen-Fleischpreßsaft. Es zeigte einen Temperaturabfall von nur 0,1° C und leichte Zitterkrämpfe, erholte sich aber schnell wieder.

Ein Vergleich der anaphylaktischen Ergebnisse dieser Versuchsreihen mit meinen früheren Ergebnissen läßt erkennen, daß bei den befruchteten Eiern auch der anaphylaktische Versuch eine strenge Differenzierung zwischen Blut, Fleisch, Rogen, Sperma und Linsen erkennen läßt, ebenso wie die Komplementablenkungsmethode.

Die Abweichung gegenüber meinen früher berichteten Versuchen liegt darin begründet, daß nur die spezifische Rogensubstanz in den verwendeten Extrakten in genügenden Mengen vorhanden war, um die Tiere dagegen zu sensibilisieren, nicht aber Blutserum, Fleisch etc., die wegen ihrer geringeren Avidität eine größere Dosis erfordern, als von der Rogensubstanz nötig ist.

Nach meinen früheren Ergebnissen wäre aber zu erwarten gewesen, daß die Tiere trotzdem nach längerer Zeit auch gegen die übrigen Antigene sensibel geworden wären. Um diese Frage weiter zu prüfen, habe ich eine größere Anzahl von Tieren, die mit erheblichen Mengen der befruchteten Forelleneier intravenös injiziert worden sind, in den Versuch genommen, die ich später nachzubehandeln gedenke.

Auf Grund der oben berichteten Ergebnisse stehe ich unter dem Eindruck, daß bei Antigenen, wie ich sie verwendete, die anaphylaktische Methode nicht eine so feine Differenzierung der verwendeten eiweißhaltigen Substanzen gestattet wie der Komplementablenkungsversuch. Besonders auffallend war mir die Verwischung der Organspezifität, die sich bei der anaphylaktischen Methode des öfteren, aber nicht regelmäßig, geltend machte, ohne daß dadurch eine einheitliche artspezifische Reaktion hervorgetreten wäre. Ein gegen Sperma sensibilisiertes Tier z. B., das auf Reinjektion von homologem Blutserum einen Anfall zeigt, jedoch überlebt, erweist sich 2 Tage später gegen Rogen nicht antianaphylaktisch. Entsprechend liegen die Verhältnisse bei den übrigen Organen. Ich habe weitere Versuche eingeleitet betreffend den schädigenden Einfluß, den

bestimmte Eingriffe auf die verschiedenen biologischen organspezifischen Reaktionen ausüben.

Besonders interessant war mir der Nachweis der Tatsache, daß sich aus einer Substanz, nämlich dem Ei der Forelle, das 24 Stunden nach erfolgter Befruchtung serobiologisch noch einen völlig einheitlichen Charakter zeigte, im Laufe der Entwicklung nacheinander verschiedene Eiweißarten entwickelten, die serobiologisch vollständig abweichend gegen die Muttersubstanz und gegeneinander reagierten. Hierin erblicke ich eine neue Feststellung, die für den weiteren Ausbau unserer Kenntnisse über die Natur der spezifischen biologischen Reaktionen von Bedeutung ist, und die mich, wie ich eingangs darlegte, bei diesen Versuchen besonders interessierte.

Im Zusammenhang mit Anfragen, die nach Veröffentlichung meiner ersten Mitteilung an mich gerichtet worden sind, sehe ich mich veranlaßt zu erklären, daß es mir vollständig fernliegt, die Priorität des Vorhandenseins einer Organspezifität für mich zu beanspruchen. Mir kam es lediglich auf eine experimentelle Stellungnahme zu den mich interessierenden Fragen an, und da ich in der Literatur keine Antwort darauf fand, so habe ich die Versuche selbst eingeleitet. Absichtlich bin ich, wie ich in meiner ersten Veröffentlichung schon darlegte, Versuchen nicht näher getreten, bei denen die Organspezifität sich nur durch das vorbereitende Ab-sättigungsverfahren hätte nachweisen lassen. Die Anwendung solcher Hilfsmittel war bei der mich interessierenden Aufgabe nicht nötig, da die in Frage kommenden Zellen auch ohnedem organspezifisch reagierten.

Herr Geheimrat Uhlenhuth hat mich ersucht, die nachstehenden von Uhlenhuth und Haendel erhobenen Befunde in diese Arbeit mit aufzunehmen, die von ihm gelegentlich der Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie (Berlin, 19.—21. Mai 1910) mitgeteilt worden sind.

„a) Mit Fischeiereiweiß (Regenbogenforelle) vorbehandelte Meerschweinchen reagieren auf die Nachbehandlung mit Extrakt von Fischeiern deutlich anaphylaktisch, nicht bei Nachimpfung mit Fischfleisch oder Fischsperma. Ebenso reagierten die mit Fischfleisch sensibilisierten Tiere in der Regel nur auf die Prüfung mit homologem Extrakt.

b) Mit Froscheiern vorbehandelte Meerschweinchen werden anaphylaktisch bei Prüfung mit Froscheiern, nicht mit Froschfleisch, reagieren aber, allerdings nur in geringem Grade, auf Kaulquappenextrakt.

c) Mit Froschfleisch vorbehandelte Tiere wirken nicht auf Eierextrakt überempfindlich, reagieren aber auf Froschfleisch. Die Versuche werden fortgesetzt und sollen das Froscheiweiß in allen Entwicklungsstadien des

Frosches vom Ei bis zum Frosch verfolgen. Auch soll besonders die Spezifität der Geschlechtszellen (Dunbar) verfolgt werden.“

Magnus und Friedenthal¹⁾ haben Einwände gegen die in meiner ersten Mitteilung gemachte Behauptung erhoben, wonach Roggenpollenextrakt selbst mit hochwertigem Pollenimmunserum keine Präzipitation ergeben sollte. Nach ihrer Meinung sollen meine Mißerfolge ihre Erklärung darin finden, daß ich alte, infolge der Austrocknung abgestorbene Pollen verwendet hatte, während in ihren eigenen Versuchen frische, lebende Pollen zur Anwendung kamen.

Obgleich ich vor Jahren auch schon ganz frische, also lebensfähige Pollen für meine Versuche verwendet hatte, so wollte ich, ehe ich antwortete, doch dem Wunsche der genannten Autoren Rechnung tragen und die Versuche mit ganz frischen Roggenpollen wiederholen. Auf die Einzelheiten der Ergebnisse werde ich in einer späteren Mitteilung eingehen. Schon heute aber kann ich erklären, daß 4 mit frischen Pollen behandelte Kaninchen mir ein Immunserum geliefert haben, das im Komplementablenkungsversuch mit frischem Pollenextrakt 1:1000 vollständige Ablenkung ergab, und im Präzipitationsversuch mit Pollenextrakt 1:10 nicht die geringste Trübung. Im Hinblick auf die Ausführungen von Magnus und Friedenthal habe ich mich auch dieses Mal nicht damit begnügt, nur $\frac{1}{10}$ ccm Blutserum und 1 ccm Extrakt anzuwenden, sondern ich habe Extrakt und Immunserum in verschiedenen Verhältnissen, z. B. zu gleichen Teilen, verwendet, ohne eine Trübung nachweisen zu können.

Ein fünftes Kaninchen, bei dem ich zwecks Nachprüfung der Friedemannschen Angaben²⁾ die Simultanimpfung mit einer Mischung aus Roggenpollenextrakt und Roggenpollenimmunserum vornahm, blieb vollständig munter, lieferte mir aber nach drei intravenösen Injektionen ein Serum, das 1:100 vollständige Hemmung ergab. Um diese Zeit ergab dieses Serum beim Präzipitationsversuch mit Roggenpollenextrakt

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 5, Heft 4, 19. April 1910, p. 505.

2) Medizinische Klinik. No. 17, 24. April 1910, p. 672.

eine Trübung, die beim Normalserum fehlte. Die Trübung entstand aber nicht nur bei Verwendung des frischen Pollenextraktes, sondern auch bei Benutzung des Extraktes aus alten getrockneten Pollen. Sie trat bei Zimmertemperatur sofort auf, verlor sich aber, wenn man die Gläschen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° C bebrütete, vollständig. Schon dieses ließ annehmen, daß es sich nicht um eine spezifische Reaktion, sondern um eine Nebenerscheinung handeln mußte. In dieser Auffassung wurde ich bestärkt durch die Beobachtung, daß dasselbe Kaninchen nach weiteren Injektionen, als das Blutserum 1:1000 im Komplementablenkungsversuch vollständige Hemmung ergab, also viel stärker geworden war, die beschriebene Trübung nicht in verstärktem Maße zeigte, sondern stark abgeschwächt und kaum sichtbar.

Bei Wiederholung der Simultanimpfung an einem anderen Kaninchen blieb die Erscheinung aus, es handelte sich demnach meiner Auffassung nach um eine dem ersterwähnten Kaninchen individuell zukommende Reaktion.

Meine Behauptungen betreffend die Präzipitinreaktion gegen Pflanzenpolleneiweiß beziehen sich, wie ich besonders hervorgehoben habe, nur auf Versuche mit Kaninchen und Pferden. Bei Menschen habe ich abweichende Befunde erhoben. Obgleich meine hierhergehörigen Beobachtungen noch nicht zahlreich genug sind, so haben sie sich doch bei fünf Heufieberpatienten, die ich bislang prüfen konnte, in so eindeutiger Weise wiederholt, daß es sich wohl um eine regelmäßige Erscheinung handeln dürfte. Läßt man das Serum eines Heufieberpatienten auf Pollenextrakt einwirken, so erhält man eine Präzipitation. Auch im Komplementablenkungsversuch zeigt sich diese Verwandtschaft. Das Blutserum der von mir untersuchten Heufieberpatienten reagierte noch mit Pollenextrakt 1:100 mit deutlicher Ringbildung (+ bis ++). Meine weiteren Studien über diesen Befund haben zu sehr interessanten Ergebnissen geführt, auf die ich heute nicht näher eingehen kann. Ich will nur hervorheben, daß die Reaktion des Blutserums von Heufieberkranken gegen Pollen-toxin nach überstandenen Heufieberanfall abzunehmen scheint. Das Blutserum der von mir bislang geprüften Normalmenschen (14) gab mit Roggenpollenextrakt im Präzipitations- und Komplementablenkungsversuch nicht die geringste Re-

aktion. Wir stehen also vor der interessanten Tatsache, daß gerade der Heufieberpatient Immunstoffe gegen das für ihn schädliche Polleneiweiß aufweist, nicht aber der normale Mensch. Auf Grund von Beobachtungen, auf die ich heute nicht näher eingehen kann, bin ich zu der Auffassung gelangt, daß die Gewebe des Heufieberpatienten eine pathologische Durchlässigkeit für Polleneiweiß aufweisen, und ich kann hinzufügen, anscheinend auch für andere Eiweißarten, denn der Heufieberpatient entwickelt sehr bald anaphylaktische Erscheinungen gegen Pferdeserum, wenn er solches auf seine Conjunctival- oder Nasenschleimhaut appliziert. Oder aber, nur der Heufieberpatient ist imstande, auf so geringe Polleneiweißmengen, wie sie auf natürlichem Wege in den Kreislauf gelangen, mit der Bildung von Antikörpern zu reagieren, während den normalen Menschen diese Reaktionsfähigkeit fehlt. Bei einer in Deutschland lebenden Person habe ich durch Zufall feststellen können, daß sie empfindlich ist gegen das Eiweiß von Ambrosiapollen. Solche kommen in Deutschland nicht vor, die betreffende Person konnte mit ihnen also noch nicht in Berührung gekommen sein. In ihrem Blutserum fehlte demgemäß der Antikörper gegen das Eiweiß der Ambrosiapollen.

Es sei noch bemerkt, daß normale, nicht vorher sensibilisierte Meerschweinchen auf intravenöse Einverleibung des Blutserums von Heufieberpatienten (2 ccm) anscheinend regelmäßig mit anaphylaktischen Symptomen prompt eingehen. Nach Inaktivierung des Serums bei 56° C verliert es diese Wirkung. Andere von mir zum Vergleich herangezogene menschliche Sera wurden zum Teil ohne Reaktion vertragen, die Mehrzahl der menschlichen Sera tötete aber Meerschweinchen, jedoch ohne Krämpfe. Die eingangs beschriebenen Kristalle habe ich bei den sterbenden Tieren regelmäßig angetroffen, auch wenn sie Krämpfe nicht hatten ¹⁾. 3 Eklampsie-

1) Bemerkung bei der Korrektur: In der Bewertung der Kristallbefunde, die mir zunächst einen Aufschluß über die auslösende Ursache des anaphylaktischen Anfalls zu enthalten schienen, möchte ich mir noch Reserve auferlegen, da ich die Hämoglobinkristalle inzwischen auch in dem Blute von Tieren gefunden habe, die nach der Sensibilisierung gestorben waren, ohne daß eine Reinjektion vorgenommen worden wäre. In dem Blute von etwa 40 untersuchten normalen Meerschweinchen bildeten sich die Kristalle nicht, selbst nach mehrtägiger Bebrütung der hängenden Tropfen bei 37° C. Nur bei zwei normalen Meerschweinchen fanden sich bislang Kristalle, jedoch in weit geringerer Menge und erst nach längerer Bebrütung.

fälle haben mir bislang ein Blutserum geliefert, das Meer-schweinchen innerhalb weniger Minuten unter anaphylaktischen Symptomen tötete. Auch auf andere Krankheiten habe ich diese Untersuchungen ausgedehnt, deren Ergebnisse ich dem-nächst mitzuteilen gedenke.

Um aber auf die von Magnus und Friedenthal er-hobenen Einwände zurückzukommen, muß ich hervorheben, daß der Hauptwiderspruch zwischen diesen Autoren und mir durch die Präzipitationsfrage bei Roggenpollen gar nicht berührt wird. Magnus und Friedenthal behaupten, alle Bestandteile der Roggenpflanze reagierten serobiologisch homolog, während ich behaupte, daß das Eiweiß der Roggen-pollen gegenüber dem Eiweiß der Roggenblätter wie artfremd reagiert. Diese meine Auffassung habe ich inzwischen in weiteren Versuchen bestätigt gefunden, über die ich demnächst im einzelnen zu berichten gedenke.

Zusammenfassung.

1) Die Organspezifität des Rogen-, Sperma-, Blut-, Fleisch- und Linseneiweißes läßt sich unter Umständen auch mit Hilfe der anaphylaktischen Methode nachweisen, jedoch führt diese Methode nicht zu so sicheren Ergebnissen wie die Komplementablenkungsmethode. Auch ist sie nicht so empfindlich.

2) In dem Organismus des sensibilisierten Meerschwein-chens scheint ein Abbau der genannten Antigene einzutreten, unter dem die artspezifischen Reaktionen nicht leiden, viel-mehr neben den organspezifischen Reaktionen hervortreten. Das sensibilisierte Tier erweist sich überempfindlich gegen-über mehreren Antigenen, ohne daß eines der betreffenden Antigene Antianaphylaxie gegen die anderen zu bewirken vermag.

3) Forelleneier reagieren kurz nach der Befruchtung nur auf Forelleneiereiweiß. Nach längerer Bebrütung tritt neben diesem zuerst die Blutreaktion auf, erst später die übrigen organspezifischen Reaktionen. Bei den ausgeschlüpften Fischen herrscht die Eiereiweißreaktion vor, so lange noch Spuren des Dottersackes sichtbar sind.

Auch bei den hierhergehörigen Feststellungen erwies sich die Komplementablenkungsmethode empfindlicher als die Präzipitation und diese wieder feiner als die anaphylaktische Reaktion.

4) Von Kaninchen gewonnenes Roggenpollen-Immunserum gibt entgegen den Behauptungen von Magnus und Friedenthal keine Präzipitation mit Roggenpolleneiweiß, jedoch präzipitiert das Blutserum von Heufieberpatienten mit Roggenpolleneiweiß, nicht aber das Blutserum von normalen Personen.

5) Das Blut von Heufieberpatienten löst bei normalen Meerschweinchen anaphylaktische Reaktionen aus. Auch das Blut von anderen Krankheiten wie Eklampsie scheint ebenso zu wirken.

6) Das Blutserum der meisten geprüften normalen Menschen tötete Meerschweinchen auf intravenöse Injektion ohne Krämpfe.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses „Am Urban“ in Berlin.]

Die Empfindlichkeit des Komplementes gegen Fermente.

Von Leonor Michaelis und Peter Skwirsky.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Juni 1910.)

Die Empfindlichkeit einer Substanz gegen spezifische Fermente gestattet einen Rückschluß auf ihre Natur. So muß man z. B. einem Stoff, welcher durch ein reines proteolytisches Ferment gespalten wird, eine eiweißartige Natur, einem durch ein lipolytisches Ferment spaltbaren Stoff Fettnatur zuschreiben. Bei der anerkannten spezifischen Wirkung der Fermente wird dagegen ein Widerspruch nicht erhoben werden. Die Schwierigkeit der experimentellen Ausnutzung dieser Erkenntnis liegt nur darin, daß die meisten von den Organismen gelieferten und als Fermente benutzbaren Sekrete Gemische von verschiedenen Fermenten darstellen, deren vollkommene Trennung nur ausnahmsweise gelingt. Wir

versuchten nun die Natur des Komplementes durch seine Empfindlichkeit gegen verschiedene Fermente aufzuklären.

Es handelt sich hier vor allem um die Frage, ob das Komplement eiweißartiger oder lipoider Natur ist. Für die lipoider Natur des Komplementes haben sich Landsteiner¹⁾ sowie v. Liebermann und Fenyvessy²⁾ ausgesprochen. Diese Autoren halten aus verschiedenen Ursachen das Komplement für ein Lipoid oder eine Lipoideiweißverbindung, so auch, weil künstlich hergestellte Lipoideiweißgemische den Komplementen ähnliche Eigenschaften haben sollen.

Wenn wir nun in dem oben erwähnten Sinne diese Frage lösen wollen, so handelte es sich um die Herstellung eines von lipolytischem Ferment freien proteolytischen Fermentes und umgekehrt. Der ersten Bedingung genügt zwar das Pepsin. Es ist jedoch für uns nicht anwendbar, da die für seine Wirkung nötige saure Reaktion das Komplement an sich zerstört. Dagegen konnten wir auf andere Weise zwei bei annähernd neutraler Reaktion wirksame reine proteolytische Fermente im obigen Sinne gewinnen. Weniger glücklich waren wir in der Gewinnung eines bei annähernd neutraler Reaktion wirksamen reinen lipolytischen Ferments.

Daher können wir auch nur die Frage nach der Eiweißnatur des Komplementes beantworten, müssen aber die Frage nach einer daneben etwa vorhandenen Lipoidnatur bislang offen lassen.

Gewinnung von reinem proteolytischen Ferment.

Aus Pankreas.

Als Ausgangsmaterial diente Pankreatinum absolut. Rhenania. Dieses Pulver enthält alle Fermente des Pankreas gemischt. Nun hat aber schon Dietz³⁾ beobachtet, daß man Pankreaspulver durch Waschen mit Wasser seines proteolytischen Fermentes fast vollkommen berauben kann, während das lipo-

1) K. Landsteiner und H. Ehrlich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 1907, p. 247 und andere Arbeiten.

2) Liebermann u. Fenyvessy, Ueber seifenartige Verbindungen der Komplemente. Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 27.

3) Dietz, Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 52, 1907, p. 286.

lytische im ungelösten Rückstand zurückbleibt. Wir können davon bestätigen, daß der klare Extrakt des Pankreaspulvers in der Tat nur proteolytisches Ferment enthält. Dagegen gelang es uns bisher nicht, den Rückstand, das lipolytische Ferment, von dem proteolytischen Ferment völlig rein zu waschen. Der Widerspruch gegen die Angaben von Dietz dürfte wohl darin begründet sein, daß seitdem die Methoden zum Nachweis des proteolytischen Ferments viel empfindlicher geworden sind, z. B. die Kaseinmethode.

Wir haben somit in dem klaren filtrierten Extrakt des Pankreatinpulvers ein vom lipolytischen vollkommen freies proteolytisches Ferment. Das darin noch enthaltene amylo-lytische Ferment dürfte für uns nicht in Frage kommen.

Ein zweites reines proteolytisches Ferment fanden wir in dem Präparat „Steapsin“ (von Grüber). Dieses Handelspräparat wurde von anderen Autoren, Schütze u. a. als ein gutes lipolytisches Ferment empfohlen, und wir hatten die Absicht, es in dieser Eigenschaft anzuwenden. Zu unserer Ueberraschung hatte aber das uns gelieferte, einige Monate im Eisschrank aufbewahrte Ferment absolut keine lipolytische, dagegen stark proteolytische Wirkung.

Zur genauen Feststellung der spezifischen Fermenteigenschaften der in unseren Versuchen benutzten Präparate wurden nun folgende Versuche ausgeführt.

Fettspaltungsversuche.

„Pankreatin“-Rhenania.

Zunächst wurde das ganze Pulver zu den Versuchen benutzt. Eine bestimmte Gewichtsmenge des Pankreatins wurde mit einer bestimmten Menge Ricinusöl oder Lecithinsuspension zusammengebracht, dann sofort titriert ($\frac{1}{10}$ -n. NaOH). Ein anderes Gefäß mit dem gleichen Gemische wurde im Brutschrank verschieden lange Zeit gehalten und dann ebenfalls titriert und so die Differenz festgestellt. Da es sich aber öfters herausstellte, daß Ricinusöl und auch Pankreatin allein und jedes für sich nach Aufbewahrung im Brutschrank eine kleine Aenderung (Erhöhung) des Titors ergaben, so wurde auch dem Rechnung getragen und entsprechende Kontrollversuche ausgeführt.

Die Titration haben wir in der Weise vorgenommen, daß zunächst durch Zugabe des ca. 6—8-fachen Volumens Alkoh. abs. und des 2—3-fachen Volumens Aether das Fett in homogene, klare Lösung gebracht wurde. Nur auf diese Weise gelingt es, genaue Titrationswerte zu erzielen.

Versuch I.

Pankreatin	0,1 g (in 2 ccm Aq. dest.)
Ricinusöl	6,0 ccm
Alkohol	70,0 „
Aether	15,0 „
<hr/>	
	a) sofortige Titration (mit $\frac{1}{10}$ -n. NaOH): 2,7 ccm.
Oefers	b) nach 2 Stunden: 7,2 „
umgerührt	c) nach 24 Stunden: 17,1 „

Versuch II (mit gekochten Pankreatin).

Pankreatin (5 Minuten gekocht)		Kontrollversuch.	
Ol. Ricini	0,1	A. Ol. Ricini	5,0
+ Alkohol	5,0	+ Alkohol u. Aether	
Aether	40,0) bei der	Titration:	
	10,0) Titration	a) sofort	2,0
Titration:		b) nach 24 Std.	2,3
a) sofort	3,1	B. Pankreatin in 5 ccm	
b) nach 24 Std.	4,2	Aq. aufgeschwemmt	0,1
		Titration (+ Alkohol u. Aether):	
		a) sofort	1,1
		b) nach 24 Std.	1,75

Versuch III.

Pankreatin	0,1	Sofortige Titration	6,2
5-proz. Lecithinaufschwemmung	10,0	nach 24 Std.	10,0
(in Wasser durch ca. 4 Std. Schüttelung hergestellt)			

Versuch IV.

Pankreatin 3-proz. Aufschwemmung in Aq. dest.
Dann filtriert: „Pankreatinfiltrat“.

Pankreatinfiltrat	3,0
Ol. Ricini	5,0
a) sofortige Titration	3,7
b) nach $2\frac{1}{2}$ Std.	3,7
c) nach 24 Std.	4,3

Kontrollversuch IVa.

Pankreatinfiltrat gekocht	3,0	
Ol. Ricini	5,0	
<hr/>		
Bei der Titration {	a) sofortige Titration	3,85
	b) nach 2 Std.	3,85
	c) nach 24 Std.	4,3

Versuch V.

Steapsin		Kontrollen.	
Ol. Ricini	2,0	A. Ol. Ricini	5,0
a) sofortige Titration	5,0	a) sofortige Titration	2,0
b) nach 5 Std.	6,3	b) nach 4 Std.	2,0
c) nach 24 Std.	6,6	c) nach 24 Std.	2,2
		B. Steapsin	2,0
		a) sofortige Titration	4,1
		b) nach 4 Std.	4,1
		c) nach 24 Std.	4,3

Eiweißspaltungsversuche.

Zu diesen Versuchen wurde Kasein benutzt.

Es wurden verschiedene Mengen Kasein in Wasser unter Zusatz von möglichst wenig Soda gelöst, dann Steapsin, sowie in anderen Versuchen das Pankreatinfiltrat zugesetzt.

Sowohl das Steapsin wie das Pankreatinfiltrat zeigten auch in kleinen Mengen hohe verdauende Kraft und schon nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde erwies sich die Essigsäureprobe auf Kasein negativ.

Mißlungene Versuche zur Gewinnung eines reinen lipolytischen Ferments.

Pankreatinpulver wurde auf der Nutsche lange Zeit mit Wasser gewaschen. Nachdem die Waschwässer die proteolytische Wirksamkeit fast verloren hatten, zeigte der Rückstand neben hoher lipolytischer Wirkung doch stetz auch noch merklich proteolytische Wirkung.

Wenn wir nun die angeführten Versuche zusammenfassend betrachten, so ergibt sich folgendes:

- 1) Das Pankreatinpulver (Rhenania) besitzt sowohl fettspaltende wie proteolytische Eigenschaften, beides in ziemlich hohem Maße.
- 2) Das Pankreatinfiltrat besitzt ausschließlich und in ziemlich hohem Maße proteolytische Eigenschaften.
- 3) Es gelingt somit zwar die proteolytische Komponente des „Pankreatins“ isoliert zu gewinnen, nicht aber die lipolytische.
- 4) Das von uns verwendete „Steapsin“ zeigte ausschließlich eiweißspaltende Eigenschaften, dagegen keine fettspaltenden.
- 5) Somit besitzen wir sowohl im „Steapsin“ wie im „Pankreatinfiltrat“ rein proteolytische Fermente.

Wirkung des Pankreatins auf Blutkörperchen.

Eine Aufschwemmung von Pankreatinpulver wirkt an sich hämolytisch. Diese Wirkung hat natürlich bei der Verdünnung eine Grenze. Aber auch durch einen Ueberschuß von Pankreatinpulver wird die Hämolyse gehemmt. Es gibt somit ein gewisses Optimum der Konzentration des Pankreatinpulvers, bei der es hämolytisch wirkt. Da dem klaren Filtrat des Pankreatins diese hämolytische Wirkung nicht zukommt, so kann sie wohl auf das lipolytische Ferment bezogen werden.

Da ferner, wie schon Friedemann¹⁾ festgestellt hat, die hämolytische Wirkung des Pankreatins durch Zusatz von Lipoiden gefördert wird und die Lipoiden durch die Wirkung des lipolytischen Ferments Seifen abspalten müssen, so können wir den ganzen Vorgang als eine einfache Seifen-hämolyse auffassen. Das reine Pankreatin enthält, wie die Extraktion mit Alkohol erweist, genügend Lipoiden, um die Wirksamkeit des Pankreatins ohne besonderen Lipoidzusatz auf befriedigende Weise zu erklären.

Ganz anders verhält sich das von lipolytischem Ferment freie Filtrat des Pankreatins. Dieses wirkt weder an sich, noch nach Lipoidzusatz hämolytisch.

Ebensowenig wie auf Blutkörperchen wirkt das Pankreatinfiltrat, wie auch das „Steapsin“ Grubler auf hämolytischen Ambozeptor. Daher sind wir in der Lage, mit diesen Fermenten die reine Wirkung auf das Komplement zu studieren.

Es zeigte sich nun, daß diese beiden proteolytischen Fermente in verhältnismäßig kurzer Zeit das Komplement unwirksam machen.

Pankreatinversuche.

Pankreatinpulver = 4-proz. Aufschwemmung.

Tabelle V.

	1	2	3	4	5
Pankreatinpulver	0,5	0,1	0,01	0,001	0,0001
Hammelblutkörp. 5 Proz.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,5	1,9	2,0	2,0	2,0
Resultat	Häm. zur Hälfte	kompl.	etwas Lösung	0	0
	1a	2a	3a	4a	5a
Pankreatinpulver	0,5	0,1	0,01	0,001	0,0001
Alkoh. Herzextrakt 1/7	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Blutkörperchen 5 Proz.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,0	1,4	1,5	1,5	1,5
Resultat	Häm. zur Hälfte	kompl.	kompl.	Spur Hämolyse	0

Es zeigt somit das Pankreatinpulver an und für sich hämolytische Eigenschaften. Diese hämolytische Eigenschaft

¹⁾ U. Friedemann, Ueber die hämolytischen Stoffe der Organe. Arch. f. Hyg., Bd. 69, p. 105.

hat merkwürdigerweise ihr Optimum bei einer bestimmten, nicht zu hohen Konzentration des Pulvers.

Durch Zusatz von Lipoidextrakt wird eine an sich unvollständig hämolytisch wirkende Menge Pankreatinpulver hämolytisch.

Wirkung der proteolytischen Fermente auf das Komplement.

Pankreatinfiltrat.

(Entsprechend einer 4-fach filtrierten ¹⁾ 1-proz. Aufschwemmung des Pulvers.)

Tabelle I.

	1	2	3	4	5	6
Pankreatinfiltrat	0,5	0,3	0,1	0,01	0,001	0,0001
Komplement (1:10)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	1,0	1,2	1,4	1,5	1,5	1,5
1 Stunde bei 37°, sodann						
5-fach sens. Blutkörper. (5 Proz.)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Resultat	0	0	0	etwas Häm.	kompl.	kompl.

Tabelle II.

	1	2	3	4	5
Pankreatinfiltrat	0,5	0,3	0,1	0,01	0,001
Komplement (1:10)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösg.	1,0	1,2	1,4	1,5	1,5
1½ Stunden bei 37°, sodann					
5-fach sensibil. Blutk.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Resultat	0	0	0	0	kpl.
zentrifugiert					
a) Abguß + persensibilis. Blutk. (0,5)	a) Abguß + pers. Blutk. (0,5)	a) Abguß + pers. Blutk.	a) Abguß + pers. Blutk.	a) Abguß + pers. Blutk.	—
Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	
b) 2) Bodensatz + Endstück	b) 2) Bodensatz + „Endstück“	b) 2) Bodensatz + „Endstück“	b) 2) Bodensatz + „Endstück“	b) 2) Bodensatz + „Endstück“	—
Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	Resultat: 0	

1) Die Filtration muß besonders sorgfältig, am besten durch eine 4-fache Papierlage und 2—3mal ausgeführt werden, da sonst das feine lipolytische Pulver durch das Filter teilweise durchgehen kann.

2) Als „Endstück“ wurde der Abguß der positiv ausfallenden Wassermannschen Reaktionen genommen. Beim Vermischen des End-

Steapsinversuche.

Tabelle III.

	1	2	3	4	5	6
Steapsin (1:30)	0,5	0,3	0,1	0,05	0,03	0,01
Komplement (1:10)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,5	0,7	0,9	1,0	1,0	1,0
$\frac{3}{4}$ Stunden bei 37°, sodann						
Ambozeptor (4-fach)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Blutkörperchen 5 Proz.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Resultat:	0	0	0	0	Spur Hämol.	kompl.

Tabelle IV.

	1	1a	2	2a
Steapsin (1:20)	0,5	0,5	0,1	0,1
Komplement (1:10)	0,5	0,5	0,5	0,3
0,85-proz. ClNa-Lös.	0,5	0,5	0,9	0,9
$\frac{3}{4}$ Stunden bei 37°, dann				
	40-fach sens. Blutk. (0,5)	entspr. per- sensibilisiert	sensibilisiert (0,5)	persensibilis. (0,5)
Resultat:	0	0	0	0

Tabelle V.

	1	2	3
Steapsin (1:25)	0,5	0,5	0,5
Komplement (1:10)	0,5	0,75	1,0
Ambozeptor (20-fach)	0,5	0,5	0,5
Blutkörperchen	0,5	0,5	0,5
0,85-proz. ClNa-Lös.	0,5	0,25	0,0
Nach 2 Std. vollständiges Ausbleiben der Hämolyse. Zentrifugiert			
	a) Abguß + 40-f. persensib. Blutk. Resultat: 0	a) Abguß + per- sensib. Blutk. Resultat: 0	a) Abguß + per- sensib. Blutk. Resultat: 0
	b) Bodensatz + „Endstück“ Resultat: 0	b) Bodensatz + „Endstück“ Resultat: 0	b) Bodensatz + „Endstück“ Resultat: 0

stücks mit dem Blutkörperchenabguß kam es manchmal zu einer sehr raschen, sicher unspezifischen Hämolyse, die zweifellos der durch Pankreatin + Lipoid hervorgerufenen Hämolyse entspricht. Blieb diese aus, so erfolgte auch keine spezifische Hämolyse.

Wenn wir nun die Resultate der in den Tabellen I—V angeführten Versuche betrachten, so ergibt sich zunächst folgendes:

Sowohl durch das Einwirken des „Steapsins“, wie durch das „Pankreatinfiltrat“ wird die Hämolyse mittelst Komplement und Ambozeptor gehemmt. Das kann entweder daran liegen, daß das Komplement durch das spezifische Ferment zerstört wird, und diese Annahme schien uns von Anfang an die wahrscheinlichere. Andererseits aber war die Möglichkeit nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, daß sowohl der freie wie auch der an die Blutkörperchen gebundene Ambozeptor von Ferment zerstört wird und daraus das Ausbleiben der Hämolyse resultiere.

, Folgende Versuche bringen diese Frage zur Entscheidung.

Einfluß proteolytischer Fermente auf den Ambozeptor.

Tabelle VIII.

Eine bestimmte Dose Ambozeptor wurde mit Steapsin resp. Pankreatinfiltrat zusammengebracht, 1 Stunde lang bei 37° stehen gelassen, dann frische Blutkörperchen hinzugefügt, ca. 15 Min. unter Umschütteln bei 37° gehalten, sodann zentrifugiert, zum Bodensatz Komplement zugesetzt und nun die etwa eintretende Hämolyse beobachtet.

a) Ambozeptor 5-fach	1,0
Steapsin (1:30)	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,5
1 Stunde bei 37°, sodann	
5 Proz. Blutkörperchen	0,5
$\frac{1}{4}$ Stunde bei 37°, zentrifugiert	
Bodensatz + Komplement (1:10)	0,5
Resultat: kompl. Lösung in 10 Min.	
b) Ambozeptor „5-fach“	1,0
Pankreatinfiltrat	0,5
0,85-proz. ClNa-Lösung	0,5
1 Stunde im Brutschrank, sodann	
5 Proz. Blutkörperchen	0,5
$\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° zentrifugiert	
Bodensatz + Komplement (1:10)	0,5
Resultat: kompl. Lösung in 8—10 Min.	

Tabelle IX.

Sensibilisierte, d. h. mit Ambozeptor schon beladene Blutkörperchen wurden mit Komplement versetzt, sodann zentrifugiert, der Bodensatz mit Komplement versetzt und nachgesehen, ob Hämolyse eintritt.

a) 5-fach sensibilisierte Blutkörperchen	1,0
Steapsin (1 : 30)	1,0
<hr/>	
3/4 Stunde bei 37°, zentrifugiert	
Bodensatz + Komplement (1:10)	0,75
Resultat: kompl. Lösung in 7—15 Min.	
<hr/>	
b) Der Versuch mit Pankreatinfiltrat fiel	
ebenso wie a aus.	

Der Ausfall der eben mitgeteilten Versuche zeigt mit genügender Bestimmtheit, daß unter gegebenen Verhältnissen die tryptischen Fermente, Steapsin und Pankreatinfiltrat, keinen zerstörenden Einfluß auf den Ambozeptor ausüben. Es folgt daraus nicht etwa, daß der Ambozeptor nicht eiweißartiger Natur ist; denn manche Eiweißkörper, z. B. genuines Serumeiweiß, werden erst durch sehr große Mengen Trypsin sehr allmählich angegriffen.

Zusammenfassung.

1) Es wird die spezifische Hämolyse vermittelst Komplement-Ambozeptor durch rein proteolytische Fermente gehemmt.

2) Diese Hemmung resultiert aus der Einwirkung der erwähnten Fermente auf das Komplement.

3) Sowohl das „Mittelstück“ wie das „Endstück“ des Komplementes werden durch rein proteolytische Fermente angegriffen.

4) Es läßt sich damit der Eiweißcharakter beider Komplementbestandteile erweisen. Es bleibt aber natürlich die Frage offen, ob außer dem Eiweißkern noch eine chemisch anders geartete Komponente an der Komplementwirkung beteiligt ist.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky; Abt.-Vorstand:
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann).]

Weitere Studien über die Uebertragbarkeit der Tuberkulin- überempfindlichkeit.

Von Dr. **M. Onaka** (aus Japan).

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Juni 1910.)

Wie aus meiner letzten Arbeit (1) hervorgeht, gelingt es nicht, mit Serum von tuberkulösen Meerschweinchen die Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das gesunde Tier passiv zu übertragen. Diese Tatsache stimmt mit den Angaben der meisten Autoren überein. Kürzlich hat Bail (2) eine interessante Arbeit in der Zeitschrift für Immunitätsforschung veröffentlicht. Danach gelang es ihm, normale Meerschweinchen durch tuberkulöses Gewebe von infizierten Tieren gegen eine gleichzeitige oder nachfolgende Injektion von Tuberkulin empfindlich zu machen. Auf Anregung des Herrn Geheimrat Wassermann habe ich mich mit dieser Frage beschäftigt und möchte in folgendem kurz die Resultate dieser Untersuchungen mitteilen.

Versuch I.

Das tuberkulöse Material wird von einem Meerschweinchen (6) gewonnen, welches ca. 8 Wochen vorher mit Sputum von tuberkulösen Menschen subkutan geimpft worden war. Das entblutete Tier hatte verkäste Leistendrüsen. Die vergrößerte Milz war von nicht verkästen Tuberkeln durchsetzt, die Leber zeigte reichliche kleine Knötchen. Milz und ein Stück Leber wurden in einem sterilisierten Mörser mit Seesand fein verrieben und dann durch sterilisierte Gaze gepreßt; der erhaltene Brei wurde im Meßzylinder abgemessen und in einer Menge von 1,0 ccm zwei Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt.

Meerschweinchen 7 (250 g) erhielt 1,0 ccm Organbrei + 4 ccm NaCl-Lösung ip. Die Injektion wurde ohne Schädigung vertragen. 20 Stunden nach dieser Injektion erhielt das Tier 0,6 ccm Tuberkulin ebenfalls ip. Die auf die Tuberkulininjektion folgende Peritonealreizung ging nach $\frac{1}{2}$ Stunde vorüber, und das Tier erscheint normal. Nach 3 Stunden war seine Körpertemperatur bis auf $36,4^{\circ}\text{C}$ gesunken, das Tier sichtlich erkrankt, Abdomen druckempfindlich. Am nächsten Tage scheint das Tier sich etwas

erholt zu haben, ist aber immer noch schwer erkrankt. Es erhielt dann (nach 24 Stunden) von neuem 0,6 ccm Tuberkulin ip. Nach vorübergehender Peritonealreizung erkrankt das Tier schwer mit den Zeichen von Peritonitis (35,0° C). Es sitzt unbeweglich mit gestäubten Haaren und wird matt, so daß es, auf die Seite gelegt, sich nur sehr mühsam aufrichten kann. Der Tod trat in der Nacht ein. Bei der Sektion finden sich die Oberfläche der Leber und einige Teile der Darmschlingen mit Fibrinflocken überzogen. In der Peritonealhöhle befinden sich ca. 5 ccm von getrübt, dickflüssigem Exsudat, welches mikroskopisch reichliche polynukleäre Leukocyten enthält. Die Fibrinflocken bestehen aus dem injizierten Gewebsmaterial und polynukleären Leukocyten. Das Exsudat erwies sich bei kultureller Prüfung als vollständig steril.

Meerschweinchen 8 ist wie No. 7 vorbehandelt, nach 20 Stunden erhielt es 0,6 ccm Tuberkulin und 24 Stunden später nochmals dieselbe Dosis. Das Tier wurde nach dem gleichen Zeitintervall wie No. 7 krank, starb aber erst am nächsten Tage, 22 Stunden nach der zweiten Tuberkulininjektion. Der Sektionsbefund war dem von No. 7 analog.

Zur Kontrolle erhielt Meerschweinchen 9, ohne daß eine Injektion von Organmaterial vorausgegangen war, nur zwei Tuberkulininjektionen. Es blieb völlig gesund und munter.

Meerschweinchen 10 erhielt 10 ccm von normalem Organbrei (von Milz und Leber eines normalen gesunden Tieres) + 4 ccm NaCl-Lösung ip. und darauf in gleicher Weise wie No. 7 und 8 zweimal je 0,6 ccm Tuberkulin. Auch dieses Tier blieb ohne Krankheitserscheinungen.

Versuch II.

Das tuberkulöse Material stammte von Meerschweinchen No. 12, welches ca. 8 Wochen vorher mit Sputum vom tuberkulösen Menschen subkutan infiziert worden war. Nach dem Entbluten zeigte es bei der Sektion das Bild allgemeiner Tuberkulose. Die Milz und ein Stück Leber wurden ganz frisch, wie bei Fall 6, verarbeitet.

Meerschweinchen No. 13 erhielt 1,5 ccm Organbrei + 4 ccm NaCl-Lösung ip. 21 Stunden nach dieser Injektion wird 0,6 ccm Tuberkulin ip. eingespritzt. Nach vorübergehender Peritonealreizung zeigte es deutlich Krankheitserscheinungen (36,5° C). Am nächsten Tage gegen Abend ging das Tier mit dem gewöhnlichen Sektionsbefund zugrunde.

Versuch III.

Das tuberkulöse Material wird von Meerschweinchen 29 und 30 gewonnen, welche wie No. 12 vorbehandelt waren.

Meerschweinchen 32 erhielt 2,0 ccm Organbrei (aus Milz und Leber) + 3,0 ccm NaCl-Lösung + 0,6 ccm unverdünntes Tuberkulin ip. Am nächsten Tage erkrankte das Tier sehr schwer und saß unbeweglich mit gestäubtem Haar. Es zeigte die Symptome der Peritonitis. 24 Stunden nach der Injektion trat der Tod ein. Der Sektionsbefund war wie gewöhnlich und Zeichen einer Infektion waren nicht zu konstatieren.

Meerschweinchen 31 (Kontrolle) erhielt 2,0 ccm Organbrei + 3,0 ccm NaCl-Lösung ip. 20 Stunden später wird 0,3 ccm Meningokokkenextrakt, eine Menge, welche ein normales Tier gerade noch ohne Schädigung vertragen kann, eingespritzt. Das Tier blieb vollkommen munter.

Versuch IV.

Das tuberkulöse Material lieferte Meerschweinchen 42, welches vor ca. 3 Wochen mit einer sehr geringen Menge von Tuberkelbacillen geimpft worden war. Milz und Leber, welche mit zahlreichen Tuberkeln durchsetzt waren, wurden als Impfmateriel verwandt.

Meerschweinchen 43 erhielt 3,0 ccm Organbrei und 20 Stunden später 0,6 ccm Tuberkulin ip. 4 Stunden später bemerkte man am Tier Krankheitsanzeichen. Am nächsten Tage hatte es sich jedoch wieder erholt.

Meerschweinchen 44 wurde wie No. 43 vorbehandelt und nachinjiziert. Gewöhnlicher Verlauf. Der Tod tritt 24 Stunden nach der Tuberkulininjektion mit typischem Sektionsbefund ein.

Meerschweinchen 45 (Kontrolle) wurde wie No. 43 und 44 vorbehandelt, erhielt 20 Stunden später 0,6 ccm 35-proz. Glyzerinbouillon ip. Nach Verschwinden der darauf folgenden Peritonealreizung zeigte es sich dauernd munter.

Die Ergebnisse der obigen Versuche stimmen mit denen Bails überein, sowohl hinsichtlich der Krankheitserscheinungen nach der Tuberkulininjektion als auch hinsichtlich des Sektionsbefundes, so daß ich also Bail völlig bestätigen kann. Als Tuberkulin wurde Alttuberkulin Höchst verwandt; zu Versuchstieren wählte ich relativ kleine junge Tiere von 250 bis 300 g aus. Wenn das Tier nach der Tuberkulininjektion typische Krankheitserscheinungen zeigte, welche schon nach 2—3 Stunden aufzutreten pflegten, war auch stets ein deutlicher Temperaturabfall bemerkbar, und zwar bis zu 36,0 bis 34,5° C. Diese gleiche Temperatursenkung konnte ich bei tuberkulösen Tieren, welchen 0,5—0,6 ccm Tuberkulin eingespritzt war, nach derselben Zeit konstatieren. Die Temperatursenkung ist also ein ziemlich konstantes und typisches Symptom der Tuberkulinanaphylaxie, in gleicher Weise, wie dies schon für andere Arten der Anaphylaxie beschrieben worden ist. Ebenso wie Bail konnte ich nachweisen, daß man Tuberkulinüberempfindlichkeit von einem tuberkulösen Tiere auf das gesunde übertragen kann. Diese Uebertragbarkeit ist namentlich dann sehr deutlich bemerkbar, wenn man zur Injektion Organe mit reichlichen Tuberkeleruptionen verwendet. Deshalb ist es sicher, daß die Reaktionskörper auf

Tuberkulin sich in den tuberkulösen Organen befinden, wie dies Wassermann und Bruck angegeben haben. Aus den folgenden Versuchen ergibt sich klar, daß diese Reaktionskörper in den tuberkulösen Herden mit den Zellen fest verbunden sind. Bei diesen Versuchen habe ich das Impfmateriel folgendermaßen bereitet. Erstens habe ich wässerige Extrakte von tuberkulösen Organen nach der Technik, welche man bei der Bereitung der Extrakte für die Wassermannsche Luesreaktion befolgt, hergestellt, zweitens brachte ich die Organe mit 2,5—5-proz. Antiforminlösung zur Auflösung und benützte diese für die Injektionen, und drittens verwendete ich einfache Emulsionen der tuberkulösen Organe zu diesem Zwecke. Während es mir mit dem wässerigen Extrakt nicht gelungen ist, die Tuberkulinüberempfindlichkeit auf gesunde Tiere zu übertragen, gelang dies mit den Antiforminorganlösungen und mit den einfachen Organemulsionen ebenso gut wie mit dem Bailschen Verfahren.

Versuch V.

Das tuberkulöse Material stammte vom Meerschweinchen 33, welches wie No. 29 und 30 vorbehandelt war und bei der Sektion gleiche Befunde ergab. Milz und ein Stück Leber wurden gewogen (20 g) und die doppelte Gewichtsmenge NaCl-Lösung hinzugesetzt. Nachdem dieses Gemisch in dem Mörser fein zerrieben war, wurde es 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur geschüttelt und dann abzentrifugiert. Es resultierten 40 ccm klarer Flüssigkeit, welche als Impfmateriel verwandt wurden.

Das Kontrolltier war ein normales Meerschweinchen 34, von dem Milz und Leber (10 g) genau in gleicher Weise wie bei No. 33 verarbeitet wurden. Es resultierten 20 ccm klare Flüssigkeit. Meerschweinchen No. 35, 36, 37, 38 erhielten je 10 ccm von obigem Schüttelextrakt des Tieres No. 33 ip. und 20 Stunden nach dieser Injektion wurden 0,5—0,6 ccm Tuberkulin ip. eingespritzt. Kein Tier zeigte typische Krankheitserscheinung. Meerschweinchen 39 erhielt 10 ccm Schüttelextrakt vom Normaltier, es blieb ebenfalls gesund und munter.

Versuch VI.

Das tuberkulöse Material stammte vom Meerschweinchen No. 56, welches vor ca. 3 Wochen mit sehr geringen Mengen von Tuberkelbacillen intraperitoneal geimpft worden war. Das entblutete Tier zeigte allgemeine Tuberkulose. Verwendet wurde die sehr stark vergrößerte, von reichlichen Tuberkeln durchsetzte Milz und die Leber mit vielen Tuberkeln. Das Impfmateriel wurde in folgender Weise hergestellt.

a) Ein Teil der Milz und ein Stück Leber wurden gewogen und mit der 4-fachen Menge NaCl-Lösung in einem Mörser fein zerrieben, sodann

24 Stunden lang geschüttelt und nachher abzentrifugiert. Die so gewonnene klare Flüssigkeit wird als Impfmateriel verwendet.

b) Die andere Hälfte der Milz und ein Stück Leber (0,5 g) werden fein zerrieben, mit 20 ccm 2,5-proz. Antiforminlösung versetzt und gut geschüttelt. Nach Entfernung des Chlors wird diese Mischung filtriert, dann mit 10-proz. Schwefelsäurelösung neutralisiert.

c) Ein Teil der Leber mit reichlichen Tuberkeln wird mit der 4-fachen Menge NaCl-Lösung in einem Mörser fein zerrieben, bis eine gleichmäßige breiige Masse entsteht. Diese Organemulsion wird als Impfmateriel verwendet.

Meerschweinchen 57 erhielt 5,0 ccm vom Antiforminextrakt (Material b) ip. Das Tier vertrug ihn ohne Schaden. 20 Stunden nach der Injektion injizierte ich 0,6 ccm Tuberkulin ip. Nachdem es sich von der darauffolgenden Peritonealreizung erholt hatte, wurde es schon 3 Stunden später ziemlich krank und kraftlos. Nach 5 Stunden war es bereits schwer krank (36,0° C). (Bauchspannung und Druckempfindlichkeit.) Der Tod trat in der Nacht ein. Sektionsbefund wie gewöhnlich, Peritonealinhalt vollständig steril. Meerschweinchen 58 erhielt 10 ccm von Organemulsion (Material c). Nach 24 Stunden wird 0,6 ccm Tuberkulin ip. eingespritzt. Am nächsten Tage ging das Tier mit typischer Erscheinung zugrunde. Sektionsbefund wie gewöhnlich, Peritonealinhalt ganz steril. Meerschweinchen 61 erhielt 10 ccm vom Schüttelextrakt (Material a) ip. Nach der Tuberkulininjektion zeigte es keinerlei krankhafte Erscheinungen und blieb dauernd gesund.

Meerschweinchen 62 erhielt 10 ccm von Antiforminextrakt (5-proz.) ip. Es wird, wie bei No. 57, Tuberkulin injiziert. 20 Stunden nach der Tuberkulininjektion trat der Tod ein. Gewöhnlicher Sektionsbefund.

Wie obige Versuche zeigen, kann man mit Organemulsion sowie mit Antiforminextrakt, ebenso wie bei Anwendung des Bailschen Verfahrens, die Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das gesunde Tier übertragen, während wässriger Extrakt sich dazu nicht eignet. Aus diesen Tatsachen kann man schließen, daß die Reaktionskörper auf Tuberkulin sehr fest an die Zellen des tuberkulösen Gewebes gebunden sind und durch Schütteln nicht in Lösung zu bringen sind.

Durch die Untersuchungen von Otto Sleeswijk, Friedberger und Hartoch wissen wir, daß bei der aktiven und auch bei der passiven Anaphylaxie während des Anfalles der Komplementgehalt des Serums eine Verminderung erfährt. Friedberger und Hartoch (3) wollen diese Erscheinung in einen gewissen ursächlichen Zusammenhang mit der Ueberempfindlichkeit bringen. Tsuru (4) konnte indes bei der aktiven und passiven Anaphylaxie keine konstante Komplementverarmung konstatieren, während die Abnahme nach Friedberger und Hartoch oft fast bis zum völligen Schwund ging.

Ich habe auch in meinen Versuchen bei einigen Meerschweinchen diese Komplementmenge vor und nach der Tuberkulininjektion ausstitriert. Nachstehend die Resultate.

Versuch VII.

Meerschweinchen 66 erhielt 10 ccm der Organemulsion eines tuberkulösen Tieres intraperitoneal und 20 Stunden später 0,6 ccm Tuberkulin ip. Darauf typische Krankheitserscheinungen mit Temperaturabfall (36,0° C).

Meerschweinchen 67 erhielt 5,0 ccm Antiforminextrakt aus tuberkulösen Organen, 20 Stunden später 0,6 ccm Tuberkulin ip. eingespritzt, typische Krankheitserscheinungen (36,0° C) in der Folge. Das Tier erholte sich wieder allmählich. Am nächsten Tage, als es schon fast gesund war, Blutentnahme.

Meerschweinchen 70 war wie No. 66 vorbehandelt, nach 20 Stunden Tuberkulininjektion.

Meerschweinchen 75 erhielt 5,0 ccm Schüttelextrakt von tuberkulösen Organen. Nach der Tuberkulininjektion zeigten sich keine typischen Erscheinungen.

Meerschweinchen 77 und 86 wurden wie No. 66 behandelt.

Meerschweinchen 87 erhielt 10 ccm Organemulsion von tuberkulöser Leber, aber es erholte sich nachher.

Meerschweinchen 88 erhielt 10 ccm Antiforminextrakt.

Komplementtitration.

Meerschw. No.	Dosis des injizierten Tuber- kulins	Blut- entnahme	Serummenge						Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	
66	0,6 ccm ip.	vor d. Injekt. 3 ^h n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. f.k.L.	k.L. g.K.	k.K. Sp.L.	g.K. k.H.	typische Er- scheinungen
67	0,6 " "	vor d. Injekt. 24 ^h n. d. Inj.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	K. f.k.L.	g.K. k.K.	erholt u. fast gesund
70	0,7 " "	vor d. Injekt. 2 ^{1/2} n. d. Inj.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.K.	k.L. K.	f.k.L. g.K.	typische Er- scheinungen
75	0,5 " "	vor d. Injekt. 2 ^{1/2} n. d. Inj.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. K.	K. K.	keine Er- scheinungen
77	0,5 " "	vor d. Injekt. 24 ^h n. d. Inj.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.K.	k.K. K.	K. g.K.	typische Er- scheinungen
86	0,5 " "	vor d. Injekt. 3 ^h n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	f.k.L. f.k.L.	k.K. k.K.	typische Er- scheinungen
87	0,5 " "	vor d. Injekt. 2 ^{1/2} n. d. Inj.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. f.k.L.	k.L. K.	K. g.K.	Erscheinung. (nicht typ.)
89	0,5 " "	vor d. Injekt. 2 ^h n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	f.k.L. f.k.L.	k.K. k.K.	Erscheinung. (nicht typ.)

k.L. = komplette Lösung; f.k.L. = fast komplette Lösung; k.K. = kleine Kuppe; K = Kuppe; g.K. = große Kuppe; Sp.L. = Spur Lösung; k.H. = komplette Hemmung.

Kontrollversuch zu Versuch VII.

Meerschweinchen 65 erhielt 5,0 ccm Antiforminextrakt von tuberkulösem Organ, aber keine Tuberkulininjektion.

Meerschweinchen 91 erhielt nur 0,6 ccm. Tuberkulin ip.

Meerschweinchen 68 erhielt 10 ccm Organemulsion von einem gesunden Tier.

Meerschweinchen 69 erhielt 8,0 ccm Antiforminextrakt von einem gesunden Tier.

Meerschweinchen 80 und 85 waren tuberkulöse Tiere, welche vor 6 Wochen mit Sputum infiziert worden waren. Nach der Tuberkulininjektion waren sie schwer erkrankt und ihre Körpertemperatur deutlich herabgesetzt (35—34° C). Nach 4—5 Stunden trat der Tod ein.

Meerschw. No.	Dosis des injizierten Tuber- kulins	Blut- entnahme	Serummenge						Symptome
			0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	
65	—	vor der Injekt. nach d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	K. K.	g.K. k.H.	
91	0,6 ccm ip.	vor der Injekt. 3 ^a n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	f.k.L. f.k.L.	g.K. k.H.	
68	0,5 „ „	vor der Injekt. 3 ^a n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.K. k.K.	k.K. K.	
69	0,5 „ „	vor der Injekt. 3 ^a n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.K. K.	g.K. g.K.	
80	0,6 „ „	vor der Injekt. 3 ^a n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	f.k.L. f.k.L.	typische Er- scheinungen	
85	0,5 „ „	vor der Injekt. 3 ^a n. d. Injekt.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.L. k.L.	k.K. k.K.	typische Er- scheinungen

Wie die obige Tabelle zeigt, hat die Komplementmenge bei den Meerschweinchen, welche mit tuberkulösem Gewebe vorbehandelt worden waren, nach der Tuberkulininjektion eine Abnahme erfahren. Diese Abnahme der Komplemente ist jedoch in meinen Versuchen nicht so bedeutend wie bei Friedberger und Hartoch. In einigen Fällen (No. 86 und 89) ist sie sogar nicht nachweisbar. Ebensovienig war bei zwei aktiv tuberkulösen Tieren, denen ich 0,5—0,6 ccm Tuberkulin injizierte, danach eine Komplementverminderung

nachweisbar. Bei den Kontrolltieren war fast keine Komplementverarmung konstatierbar.

Zusammenfassung.

1) Durch Vorbehandlung gesunder Meerschweinchen mit tuberkulösem Gewebe von tuberkulös infizierten Meerschweinchen kann man die Tuberkulinüberempfindlichkeit auf das gesunde Tier passiv übertragen (Bail). Diese Uebertragung gelingt auch mit Antiforminextrakten aus tuberkulösen Organen, während wässerige Extrakte sich dazu nicht eignen.

2) Die Komplementabnahme läßt sich bei passiver Tuberkulinüberempfindlichkeit nicht konstant, aber doch in den meisten Fällen nachweisen.

3) Bei aktiver Tuberkulinüberempfindlichkeit konnte Komplementabnahme nicht nachgewiesen werden.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Geh. Medizinalrat Professor Dr. Wassermann für die mannigfache Anregung und Förderung bei dieser Arbeit meinen wärmsten Dank aussprechen.

Literatur.

- 1) Onaka, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 5, 1910, Heft 2 und 3.
- 2) Bail, ebenda, Bd. 4, 1909, Heft 4.
- 3) Friedberger und Hartoch, ebenda, Bd. 3, 1909, Heft 6.
- 4) Tsuru, ebenda, Bd. 4, 1910, Heft 5.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

**Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung
hämolytischer Sera.**

Von Dr. Pietro Rondoni (Florenz).

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Juni 1910.)

Die Erforschung der Einflüsse, welche Aenderungen in der Zusammensetzung des Mediums auf das Zustandekommen der als Immunitätsreaktionen zusammengefaßten Erscheinungen ausüben, hat neben dem theoretischen Interesse naturgemäß auch eine nicht geringe praktische Bedeutung. Für die hämolytischen Wirkungen kommt noch als besonders aktuell der Umstand hinzu, daß die Komplementbindungsmethoden, und insbesondere die Wassermannsche Syphilisreaktion, eine immer größer werdende praktische Verwendung finden. Und da bei allen diesen Vorgängen die aus dem Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement resultierende Hämolysinwirkung den schließlichen Indikator darstellt, so ergibt sich, daß die Praxis der Komplementbindung einen immer tiefer gehenden Einblick in die Momente, welche die Hämolyse beeinflussen, erforderlich macht. Auf die zahlreichen Angaben, welche in der Literatur bereits über den Einfluß der verschiedenartigen Agentien auf die Hämolyse vorliegen, soll nicht im einzelnen eingegangen werden. Es dürfte genügen, kurz auf diejenigen Arbeiten hinzuweisen, welche mit dem hier behandelten Thema in engerem Zusammenhange stehen.

Die folgenden Untersuchungen¹⁾ betreffen den Einfluß der Reaktion des umgebenden Milieus auf die Hämolyse. Zwar

1) Die Ausführung der Versuche liegt einige Zeit zurück. Ueber die wichtigsten Ergebnisse ist bereits durch Sachs (II. Tagung der Freien Vereinigung f. Mikrobiologie, Centralbl. f. Bakt. I, Ref., Bd. 42, Beiheft 1908) kurz berichtet worden. Die ausführliche Veröffentlichung ist aus äußeren Ursachen verzögert worden.

liegen bereits eine Reihe von Arbeiten über diesen Gegenstand vor, aber die Verhältnisse sind hier doch so kompliziert, daß für eine erschöpfende Beurteilung der interessierenden Fragen, auf welche Komponenten, und in welcher Weise Alkalien und Säuren auf den hämolytischen Prozeß wirken, weitere Untersuchungen wünschenswert erscheinen mußten. Bereits durch Ehrlich und Morgenroth¹⁾, sowie Ehrlich und Sachs²⁾ wissen wir, daß hinreichende Säure- und Alkalikonzentrationen Komplemente zerstören, sie dauernd inaktivieren können. In diesem Falle bleibt die hämolytische Wirkung auch nach dem Neutralisieren aus. Schwieriger zu beurteilen sind aber die Bedingungen, wenn ein Einfluß geringerer Alkali- oder Säuremengen wahrzunehmen ist, der nach dem Neutralisieren wieder schwindet. In der Tat hat von Liebermann³⁾ zuerst beschrieben, daß geringe Alkalimengen die Wirkung hämolytischer Sera hemmen, während sie durch Säurezusatz verstärkt werden kann. Diese Angaben sind inzwischen von Hecker⁴⁾, wie Sachs und Altmann⁵⁾ bestätigt worden, während Meyer⁶⁾ der Nachweis eines Einflusses der Reaktion auf die Hämolyse nicht gelang⁷⁾.

Zu meinen Versuchen, welche sich wesentlich auf den Einfluß der Reaktion auf die Ambozeptorwirkung beziehen, diente das inaktivierte Serum von Kaninchen, die mit Rinderblut vorbehandelt waren. Als Blut kamen 5-proz. Aufschwemmungen von Rinderblut oder 7-proz. Aufschwemmungen von Hammelblut⁸⁾, als Komplement Meerschweinchenserum zur

1) P. Ehrlich und J. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1899, No. 22.

2) P. Ehrlich und H. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 14/15.

3) L. von Liebermann, Biochem. Zeitschr., Bd. 4, 1907 u. Arch. f. Hyg., Bd. 62, 1907.

4) R. Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Therapie in Frankfurt a. M., 1907, Heft 3.

5) H. Sachs und K. Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.

6) K. Meyer, Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 1908.

7) Auf die kürzlich erschienene Arbeit von Michaelis und Skwirsky wird am Schluß eingegangen.

8) Hammelblut wird durch HCl stärker, durch NaOH geringer alteriert, als Rinderblut, weshalb für HCl-Versuche oftmals Rinderblut, für NaOH-Versuche Hammelblut geeigneter erschien.

Anwendung. Die Versuchsröhrchen blieben im allgemeinen 2 Stunden im Thermostaten bei 37° und wurden nach weiterem Aufenthalt im Eisschrank am nächsten Morgen abgelesen. Abweichungen von diesem Vorgehen werden in den folgenden Versuchen besonders bemerkt. Zur Aenderung der Reaktion wurden Natronlauge und Salzsäure benutzt.

I. Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Hämolyse.

Die ersten orientierenden Versuche führten zu einer Bestätigung der Tatsache, daß die Hämolyse durch Alkalizusatz gehemmt, durch Säure beschleunigt werden kann. Zur Demonstration der ersten Behauptung lasse ich ein Versuchsbeispiel folgen:

Absteigende Mengen des inaktiven Immunserums (Ambozeptor) werden mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung und je 0,1 ccm Meer-schweinchenserum (Komplement) gemischt (Gesamtvolumen: 2,1 ccm). Von 3 identischen derartigen Reihen erhalten 2 (a und b) einen angemessen erscheinenden Zusatz von Natronlauge (je 0,1 ccm $\frac{1}{30}$ -n. NaOH). Nach einstündigem Verweilen bei 37° erfolgt Ablesung des Ergebnisses und in Reihe b zwecks Neutralisation ein Zusatz von je 0,1 ccm $\frac{1}{30}$ -n. HCl. Die Versuchsreihen werden nunmehr weitere 2 Stunden bei 37° digeriert. Das in Tabelle I angegebene „Endresultat“ ist nach folgendem ca. 18-stündigen Aufenthalt im Eisschrank notiert.

Tabelle I.

Mengen des Ambozeptors ccm	Hämolyse des Hammelblutes durch je 0,1 ccm Meer-schweinchenserum und absteigende Mengen Ambozeptor bei Zusatz von:					
	a) NaOH		b) NaOH		c)	
	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	+ HCl Endresultat	nach 1 Std.	Endresultat
0,005	0	wenig	0	komplett	komplett	komplett
0,0025	0	Spur	0	"	"	"
0,0015	0	0	0	"	"	"
0,001	0	0	0	fast komplett	stark	fast komplett
0,0005	0	0	0	wenig	0	wenig
0,00025	0	0	0	Spürchen	0	Spürchen
0,00015	0	0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß der Alkalizusatz eine erhebliche Hemmung der Hämolyse bedingt. Denn in den Reihen a und b ist nach 1 Stunde überhaupt keine Hämolyse eingetreten, während in der Kontrollreihe c die Hämolyse nach dieser Zeit fast ihr Maximum erreicht hat.

Daß es sich aber nicht etwa um eine zerstörende Wirkung der Natronlauge handelt, ergibt sich mit Deutlichkeit aus der Reihe b, in der die nach 1 Stunde vorgenommene Neutralisation imstande ist, die hämolytische Kraft ungeschwächt zu restituieren.

Schwieriger ist der beschleunigende Einfluß eines Säuregehaltes zu demonstrieren, und zwar wesentlich deshalb, weil die Beschleunigung von einem Optimum der Säurekonzentration abhängt, dessen Zone sehr eng begrenzt ist. So sei als ein Beispiel folgender kurzer Versuchsauszug angeführt, in dem absteigende Mengen Normalsalzsäure (Volumen: 1 ccm) mit dem System: 1 ccm Ochsenblutaufschwemmung + $\frac{1}{100} \cdot 0,2$ ccm. Ambozeptor + $\frac{1}{2} \cdot 0,1$ ccm Meerschweinchenserum digeriert wurden (s. Tabelle II).

Tabelle II.

Normal-Salzsäure ccm	Hämolyse von Ochsenblut durch 0,002 ccm Ambozeptor + 0,05 ccm Meer- schweinchenserum nach:		
	15 Minuten	40 Minuten	Endresultat
0,006	0	0	stark
0,005	Spürchen	stark	komplett
0,004	mäßig	komplett	„
0,003	Spürchen	mäßig	„
0	„	„	„

Es zeigt sich also, daß bereits bei einem geringen Ueberschuß der für die Beschleunigung der Hämolyse günstigen Säuremenge eine Hemmungswirkung zu beobachten ist.

In gleicher Weise habe ich den Einfluß der Reaktion auf die hämolytische Wirkung normaler Sera festzustellen gesucht. Dabei kam das im Rinderserum enthaltene Hämolsin für Meerschweinchenblut zur Anwendung.

Was zunächst die Alkaliwirkung anlangt, so wurden absteigende Mengen Normal-Natronlauge in 2 Parallelreihen mit je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblut und:

- a) je 0,15 ccm Rinderserum, entsprechend der gerade komplett resp. fast komplett lösenden Dosis,
- b) je 0,15 ccm physiologischer Kochsalzlösung digeriert.

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Menge der n.-NaOH ccm	Hämolyse von Meerschweinchenblut bei Zusatz von Natronlauge und			
	a) 0,15 ccm Rinderserum		b) 0,15 ccm Kochsalzlösung	
	nach 1 $\frac{1}{4}$ Std.	Endresultat	nach 1 $\frac{1}{4}$ Std.	Endresultat
0,01	Spur	komplett	komplett	komplett
0,008	"	fast komplett	"	"
0,006	0	wenig	fast komplett	"
0,005	0	Spur	Spürchen	stark
0,004	0	"	0	mäßig
0,003	0	wenig	0	Spur
0,0025	stark	stark	0	Spürchen
0,002	"	"	0	"
0,0015	"	"	0	"
0,00125	"	"	0	0
0,00075	"	"	0	0
0	"	fast komplett	0	0

Der hemmende Einfluß der Natronlauge ist deutlich ersichtlich, und um so markanter, als die stärkste Hemmung bei solchen Alkalimengen eintritt, die an und für sich hämolytisch wirken. Dürfte freilich bei den stärksten Konzentrationen ein zerstörender Einfluß interferieren, so fällt dieses Moment bei den stärkeren Verdünnungen wohl sicherlich fort.

In analoger Weise ergab sich auch für das normale Hämolsin des Rinderserums eine Beschleunigung der Hämolyse durch Salzsäurezusatz. Es konnte hierbei eine geringgradige dauernde Verstärkung festgestellt werden, wie folgendes Versuchsbeispiel zeigt:

Absteigende Mengen Rinderserums (Volumen = 1 ccm) werden mit je 1 ccm 5-proz. Meerschweinchenblutes unter Zusatz von

a) 0,1 ccm $\frac{1}{25}$ -n. HCl,

b) 0,1 ccm 0,85-proz. NaCl digeriert (siehe Tabelle IV).

Tabelle IV.

Mengen des Rinder- serums ccm	Hämolyse von Meerschweinchenblut durch Rinderserum bei Zusatz von			
	a) 0,1 ccm $\frac{1}{25}$ n. HCl		b) 0,1 ccm 0,85-proz. NaCl	
	nach 40 Min.	Endresultat	nach 40 Min.	Endresultat
0,25	komplett	komplett	komplett	komplett
0,15	"	"	Spürchen	"
0,1	mäßig	"	0	stark
0,05	0	wenig	0	0
0,025	0	0	0	0

Die Tabelle zeigt einerseits die Beschleunigung, andererseits die geringe, aber immerhin deutliche, dauernde Verstärkung, welche durch den Säurezusatz veranlaßt war. Dabei muß bemerkt werden, daß eine Additionswirkung ausgeschlossen erscheinen kann, indem nämlich die hinzugefügte Salzsäuremenge erheblich geringer war als diejenige, welche an und für sich Hämolyse bewirkte.

Indessen war der beschriebene beschleunigende Einfluß der sauren Reaktion nicht bei allen hämolytischen Systemen wahrzunehmen. So hatten wir Gelegenheit, ein Meerschweinchen-serum zu untersuchen, das durch einen besonders großen Gehalt an normalen Ambozeptoren für Rinderblut ausgezeichnet war und daher diese Blutart stark löste. Hier konnte aber ein verstärkender oder auch nur beschleunigender Einfluß des Salzsäurezusatzes nicht wahrgenommen werden, vielmehr trat bei geeigneter Salzsäurekonzentration lediglich eine Hemmungswirkung ein. Ob es sich dabei um eine eigentliche Hemmung oder Zerstörung handelte, muß dahingestellt bleiben. Alkalizusatz bewirkte hingegen auch bei dem Hämolsin des Meerschweinchen-serums die typische Behinderung der Hämolyse.

II. Ueber den Einfluß der Reaktion auf die Bindung des hämolytischen Ambozeptors.

Wesentlich für die vorliegenden Untersuchungen war, wie schon erwähnt, die Frage nach dem Einfluß der Reaktion auf die Ambozeptorbindung. Methodisch war hierfür der Weg klar vorgezeichnet, indem der Bindungsversuch entscheiden mußte, ob durch den Zusatz von Alkali oder Säure die Bedingungen für das Beladen der Blutzellen mit Ambozeptoren alteriert werden. Folgendes Versuchsbeispiel soll zunächst die Bedeutung der Natronlauge demonstrieren.

Absteigende Mengen Normal-Natronlauge wurden mit je einer Ambozeptoreinheit (0,001 ccm) und je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung 1 Stunde bei 37° digeriert (Gesamtvolumen 2,1 ccm). Sodann wurde zentrifugiert:

a) die Sedimente werden 2mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und sodann unter Zusatz von je 0,1 ccm Meerschweinchen-serum + 1,75 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt,

b) die Abgrüsse werden durch Zusatz von je 0,1 ccm geeigneter n-HCl-Lösung neutralisiert und sodann mit je 0,25 ccm 4-fach konzen-

trierter (28-proz.) Hammelblutaufschwemmung und 0,1 ccm Meerschweinchenserum beschickt.

Es sei bemerkt, daß vor dem Zentrifugieren auch bei den größten Alkalimengen eine Hämolyse nicht eingetreten war.

Das Endresultat zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen der Normal- Natronlauge ccm	Hämolyse von Hammelblut durch Meer- schweinchenserum und Ambozeptor	
	a) nach Bindung des Ambozeptors unter Einfluß von NaOH	b) nach Digerieren des Ambozeptors mit Blut unter Zusatz von NaOH
0,01	0	komplett
0,008	0	fast komplett
0,006	0	stark
0,005	Spur	"
0,004	mäßig	mäßig
0,003	stark	wenig
0,0025	"	"
0	komplett	0

Wie die Tabelle zeigt, ist in der Tat die Bindung des Ambozeptors an die roten Blutkörperchen durch Alkalizusatz verhindert worden, und zwar hat sich eine Menge von 0,006 ccm n-Natronlauge als hinreichend erwiesen, um die nachweisbare Ambozeptorbindung vollständig aufzuheben, was bei dem Volumen von 2,1 ccm einer Konzentration von $1/250$ -n. Natronlauge entspricht. Zwar dürften bei dieser Konzentration noch geringe Spuren des Ambozeptors gebunden worden sein, da in dem Abgusse nicht mehr genügend Ambozeptor nachweisbar war, um komplette Hämolyse zu erzielen. Dagegen wird bei der etwas größeren Natronlauge menge von 0,01 ccm entsprechend einer Konzentration von $1/210$ -n. Natronlauge die Ambozeptorbindung dermaßen beeinflußt, daß der Abguß zur vollständigen Hämolyse ausreicht. Man kann daher unter Berücksichtigung des Umstandes, daß zu diesem Versuch gerade die Ambozeptoreinheit diente, von einer vollständigen Aufhebung der Ambozeptorbindung durch Alkalizusatz sprechen¹⁾. Prinzipiell

1) Allerdings wies der Abguß nicht immer eine hinreichende Wirksamkeit auf, obwohl der Ambozeptor dabei auch im Sediment nicht nachzuweisen war. Man muß daher auch an einen zerstörenden Einfluß der Lauge auf die Ambozeptoren denken (siehe hierüber an späterer Stelle).

gleichartige Befunde konnten auch bei Verwendung von Rinderblut erhoben werden, wenngleich es zuweilen aus nicht näher analysierten Ursachen schien, als ob sich das Hammelblut zur Demonstration der Tatsache besser eignete.

Um die Frage zu entscheiden, ob auch eine größere Anzahl von Ambozeptoreinheiten durch eine alkalische Reaktion des Mediums an der Verankerung gehindert werden kann, bin ich in folgender Weise verfahren:

Absteigende Mengen des Ambozeptorserums werden mit je 0,2 ccm $\frac{1}{30}$ -n. Natronlauge und je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung (Gesamt-volumen 2,2 ccm) $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 37° digeriert (Reihe A). Gleichzeitig wird eine Kontrollreihe B angesetzt, die sich von der Reihe A nur durch das Fehlen des Alkalis unterscheidet. Nach dem Zentrifugieren und Waschen werden die Sedimente mit physiologischer Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt und mit je 0,1 ccm aktiven Meerschweinchenserums als Komplement beschickt. Die Abgüsse werden (diejenigen der Reihe A nach vorherigem Neutralisieren) mit je 0,25 ccm vierfach konzentrierter Hammelblutaufschwemmung und 0,1 ccm aktiven Meerschweinchenserums digeriert. Die nach einstündigem Aufenthalt bei 37° eingetretene Hämolyse sowie das nach üblichem Verlauf abgelesene Endresultat sind in Tabelle VI notiert.

Tabelle VI.

Mengen des Ambo- zeptors	Hämolyse von Hammelblut durch Meerschweinchenserum und Ambozeptor							
	A Ambozeptorbindung ($\frac{1}{2}$ Std.) bei Alkalizusatz				B Kontrollversuch			
	Sedimente		Abgüsse		Sedimente		Abgüsse	
	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	End- resultat
ccm								
0,01	wenig	stark	kpl.	kompl.	kpl.	kompl.	wenig	stark
0,005	0	Spürch.	f. kpl.	„	„	„	0	wenig
0,0025	0	0	„	„	„	„	0	Spürch.
0,002	0	0	stark	„	f. „	„	0	0
0,0018	0	0	mäßig	„	f. kpl.	„	0	0
0,0016	0	0	„	fast kpl.	stark	„	0	0
0,0014	0	0	„	„	mäßig	„	0	0
0,0012	0	0	„	stark	wenig	fast kpl.	0	0
0,001	0	0	Spur	mäßig	Spur	stark	0	0

Stimmt der in Tabelle VI wiedergegebene Versuch in seinem Wesen mit demjenigen der Tabelle V vollständig überein, so zeigt er andererseits, daß die verwendete Natronlauge-menge, welche eine Konzentration von $\frac{1}{330}$ -n. Natronlauge

bedingte, imstande war, die Bindung von etwa 3 Ambozeptoreinheiten fast vollständig zu verhindern und selbst bei Gegenwart von 7—8 Ambozeptoreinheiten noch nicht die Bindung einer einzigen Ambozeptoreinheit ermöglichte.

Schwieriger gestalteten sich die Bedingungen, um einen Einfluß der sauren Reaktion auf die Ambozeptorbindung nachzuweisen. Als ich die Ambozeptoreinheit mit verschiedenen Mengen von n-Salzsäure mischte, zeigte sich meist kein Unterschied, indem auch die Sedimente der unter Salzsäurezusatz mit Ambozeptoren digerierten Blutkörperchen nach Komplementzusatz vollständig gelöst wurden, während der Ambozeptor aus den Abgüssen trotz des sauren Mediums verschwunden war. Dagegen konnte öfter eine verzögerte Hämolyse der bei Säurezusatz mit Ambozeptor beladenen Blutkörperchen wahrgenommen werden, gelegentlich auch geringgradige Hemmung. Auch die Salzsäure erwies sich also auf die Ambozeptorbindung nicht ohne Einfluß, und dies wurde deutlicher, als ich Multipla der Ambozeptoreinheit im sauren Medium auf die Blutkörperchen einwirken ließ.

Zu diesem Versuch wurden wegen der größeren Resistenz gegenüber der Salzsäurewirkung Rinderblutkörperchen benutzt. Als Salzsäuremenge enthielt jedes Röhrchen 0,2 ccm $\frac{1}{40}$ -n. Salzsäure; im übrigen entsprach die Versuchsanordnung vollständig derjenigen des in Tabelle VI wiedergegebenen Versuches. Das Ergebnis ist aus Tabelle VII ersichtlich.

Tabelle VII.

Mengen des Ambo- zeptors	Hämolyse von Rinderblut durch 0,1 ccm Meerschweinchen- serum und Ambozeptor							
	A Ambozeptorbindung ($\frac{1}{2}$ Std.) bei Säurezusatz				B Kontrollversuch			
	Sedimente		Abgüsse		Sedimente		Abgüsse	
	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	End- resultat	nach 1 Std.	End- resultat
0,01	kpl.	kompl.	kpl.	kompl.	kpl.	kompl.	stark	fast kpl.
0,005	"	"	stark	"	"	"	0	Spürch.
0,0025	"	"	0	Spur	"	"	0	0
0,002	"	"	0	Spürch.	"	"	0	0
0,0018	"	"	0	0	"	"	0	0
0,0012	stark	"	0	0	"	"	0	0
0,001	Spch.	fast kpl.	0	0	stark	"	0	0
0,0008	"	stark	0	0	Spch.	stark	0	0
0,0007	0	mäßig	0	0	0	mäßig	0	0

Aus dem Versuch, besonders auch aus dem Vergleich der Abgüsse, ergibt sich, daß eine gewisse Verhinderung der Ambozeptorbindung durch Salzsäure wohl wahrnehmbar ist. Jedoch handelt es sich um eine Interferenz, die besonders in Hinsicht auf die stark hemmende Wirkung der Natronlauge als geringgradig erscheint.

Ich habe dann versucht, eine stärkere Hemmung der Salzsäure durch Verkürzung der Bindungszeit kenntlich zu machen und bin dabei folgendermaßen verfahren:

Absteigende Mengen des Ambozeptors wurden unter Zusatz von je 0,1 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Salzsäure mit je 1 ccm 5-proz. Rinderblut digeriert, und zwar:

- A. 10 Minuten lang,
- B. 20 Minuten lang,
- C. 30 Minuten lang.

Nach Ablauf der genannten Zeiten wurde zentrifugiert. Die gewaschenen Sedimente werden unter Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchen-serum in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die neutralisierten Abgüsse werden in gewöhnlicher Weise auf Ambozeptorgehalt geprüft.

In einem Kontrollversuch D, in dem die Ambozeptorbindung ohne Säurezusatz 10 Minuten lang bei 37° erfolgte, wurde in gleicher Weise verfahren. Das Ergebnis zeigt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Mengen des Ambo- zeptors	Hämolyse von Rinderblut durch 0,1 ccm Meerschweinchen- serum und Ambozeptor							
	Ambozeptorbindung bei Säurezusatz						Kontrolle	
	A		B		C		D	
	10 Minuten		20 Minuten		30 Minuten			
ccm	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse
0,002	fast kpl.	Spch.	kompl.	0	kompl.	0	kompl.	0
0,0015	" "	0	fast kpl.	0	" "	0	" "	0
0,001	Spur	0	Spur	0	Spur	0	Spur	0

Es zeigt sich also, daß nur bei 10 Minuten langem Digerieren eine Hemmung der Ambozeptorbindung durch den Säurezusatz zu beobachten ist. Nach 20 Minuten ist der Unterschied minimal, nach 30 Minuten ist ein Einfluß der Salzsäure nicht mehr zu konstatieren.

Ganz im Gegensatz dazu trat bei zeitlicher Beobachtung des Bindungsverlaufes der hemmende Einfluß des Alkalis sehr deutlich hervor.

Es wurde zu diesem Zwecke, wie oben, verfahren. Nur kam Hammelblut zur Verwendung. In den Reihen A, B, C wurden die Ambozeptorverdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung, welche einen Gehalt von $\frac{1}{300}$ -n. Natronlauge hatte, hergestellt. Nach dem Blutzusatz entsprach also der Alkaligehalt $\frac{1}{400}$ -n. Natronlauge. Die Trennung von Sedimenten und Abgüssen erfolgte in Reihe A nach 10 Minuten,
in Reihe B nach 30 Minuten,
in Reihe C nach 60 Minuten.

In 2 Kontrollreihen wurde der Bindungsversuch ohne Alkalizusatz vorgenommen, die Bindungszeit betrug in Reihe D 10 Minuten,
in Reihe E 30 Minuten.

Das Ergebnis zeigt Tabelle IX.

Tabelle IX.

Mengen des Ambo- zeptors	Hämolyse von Hammelblut durch Meerschweinchenserum und Ambozeptor									
	Ambozeptorbindung bei Alkalizusatz						Kontrollen			
	A 10 Minuten		B 30 Minuten		C 60 Minuten		D 10 Minuten		E 30 Minuten	
	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse	Sedi- mente	Ab- güsse
ccm										
0,002	Spur	kpl.	f. kpl.	stark	f. kpl.	stark	f. kpl.	Spch.	kpl.	0
0,0015	"	stark	stark	mäßig	"	Spur	"	"	f. kpl.	0
0,001	Spch.	Spur	Spur	Spch.	Spur	0	wenig	0	f. kpl.	0

Wir ersehen aus der Tabelle, daß zwar auch der hemmende Einfluß von Alkali mit der Zeit durch die Avidität zwischen Blutkörperchenrezeptor und cytophiler Ambozeptorgruppe verringert wird, daß er aber selbst nach einstündigem Digerieren noch deutlich wahrnehmbar ist. Wir können also auch aus diesen vergleichenden Untersuchungen schließen, daß die Verankerung des Ambozeptors wesentlich durch Alkaligehalt des Mediums eine recht erhebliche Hemmung erfährt, während eine gleichsinnige Funktion der sauren Reaktion nur in untergeordnetem Maße wahrzunehmen ist.

Wenn wir nun nach den Ursachen der Hemmungswirkung fragen, so kommen zunächst zwei Möglichkeiten in Betracht. Es könnte sich nämlich um schädigende Einflüsse auf die Blutkörperchenrezeptoren einerseits, auf die Ambozeptoren andererseits handeln. Sollte der hemmende Einfluß der Natron-

lauge durch den ersteren Faktor bedingt sein, so mußte man erwarten, daß die Ambozeptorbindung ebenso aufgehoben ist, wenn die roten Blutkörperchen zunächst der Einwirkung von Alkali ausgesetzt und erst nach dem Zentrifugieren mit dem Ambozeptor digeriert werden. Das ist nicht der Fall, wie folgendes kurzes Versuchsbeispiel zeigt:

In Reihe A bleiben je 1 ccm Rinderblutaufschwemmung mit absteigenden Mengen n-NaOH (Volumen = 2 ccm) 1 Stunde bei 37°. Die sodann abzentrifugierten und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschenen Blut-sedimente werden mit Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,0015 ccm Ambozeptor + 0,1 ccm Meerschweinchenserum aufgeschwemmt und, wie üblich, behandelt.

In Reihe B werden je 1 ccm Rinderblutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde bei 37° digeriert, zentrifugiert und gewaschen. Die Sedimente werden sodann in Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,0015 ccm Ambozeptor + 0,1 ccm Meerschweinchenuserum, sowie absteigender Mengen Natronlauge aufgeschwemmt. Das Ergebnis ist in Tabelle X notiert.

Tabelle X.

Menge der n-NaOH ccm	Reihe A	Reihe B
0,01	komplett	0
0,008	"	0
0,006	"	Spur
0,005	"	komplett

Die vorherige Behandlung der Blutkörperchen mit Alkali ist also ohne jeden Einfluß; im Gegenteil trat sogar in den ersten Röhrchen der Reihe A die Hämolyse rascher ein, offenbar ein Zeichen einer durch Alkaliwirkung verminderten Resistenz.

Da hiernach ein Einfluß des Alkalis auf die Rezeptoren der roten Blutkörperchen wohl ausgeschlossen erscheint, mußte man an die Möglichkeit denken, daß die Alkaliwirkung in einer Schädigung der cytophilen Ambozeptorgruppe besteht. Aber vergleichende Untersuchungen, in denen einerseits Natronlauge und Ambozeptor vor dem Blutzusatz 1 Stunde bei 37° digeriert wurden, andererseits die Natronlauge erst bei der Ambozeptorbindung zur Einwirkung gelangte, ergaben keinen Unterschied in dem Grade der Hemmung, den man hätte erwarten dürfen, wenn es sich um eine schädigende Einwirkung auf den Ambo-

zeptor handelte. Daß überdies die Schädigung eine reversible sein mußte, die durch das Neutralisieren wieder beseitigt wird, ergibt sich ja daraus, daß in den Bindungsversuchen die nicht gebundenen Ambozeptorquantitäten in den neutralisierten Abgüssen nahezu vollständig nachgewiesen werden konnten. Aber immerhin war, wie schon erwähnt, der Verlauf dieser Versuche nicht immer derart quantitativ, daß sich eine geringgradige Schädigung des Ambozeptors durch Alkaliwirkung gänzlich ausschließen ließe.

Um daher den Einfluß der Natronlauge auf den Ambozeptor noch näher zu analysieren, habe ich absteigende Mengen von n-Natronlauge mit kleinen Ambozeptordosen 1 Stunde bei 37° digeriert und sodann erst nach dem Neutralisieren Blut und Komplement hinzugefügt. Die Versuche fielen nicht ganz gleichsinnig aus. Meist war eine Verringerung der Hämolyse durch vorangehende Alkaliwirkung auf den Ambozeptor nicht oder nur sehr wenig ausgesprochen wahrzunehmen, zuweilen trat aber die Hämolyse bei den vorher mit größeren Alkalimengen behandelten Ambozeptorproben langsamer auf, um in der Mehrzahl der Fälle schließlich auch komplett zu werden. Ein Beispiel dieser Art lasse ich in Tabelle XI folgen.

Tabelle XI.

Mengen der Normal- Natronlauge ccm	Hämolyse von Hammelblut durch 0,1 ccm Meerschweinchen- serum und 0,0015 ccm Ambozeptor, letzterer mit absteigenden Alkalimengen digeriert und dann neutralisiert	
	Nach 45 Minuten	Endresultat
0,01	wenig	komplett
0,008	mäßig	"
0,006	stark	"
0,005	"	"
0,004	"	"
0,003	"	"
0,0025	fast komplett	"
0	komplett	"

Es zeigt sich also hier, daß die Hämolyse durch das vorherige Digerieren des Ambozeptors mit Natronlauge sich verlangsamt erweist. Man kann die Ursache dafür in einer geringgradigen Zerstörung des Ambozeptors oder in einer durch den Alkalieinfluß bedingten reversiblen Modifikation erblicken, die eine gewisse Zeit zur Umkehr braucht.

Ausgesprochenere Erscheinungen zeigten sich, als wir den Ambozeptor mit absteigenden Mengen von n-Salzsäure vorbehandelten und später nach dem Neutralisieren Blut und Komplement hinzufügten. Es trat hierbei stets eine nicht unerhebliche Verlangsamung der Hämolyse bei Verwendung der mit größeren Salzsäuremengen digerierten Ambozeptorproben ein, und selbst am nächsten Tage war meist noch eine Hemmung wahrzunehmen.

Folgendes Versuchsbeispiel (Tabelle XII), in dem je 0,0015 ccm Ambozeptor mit absteigenden Säuremengen $1\frac{1}{4}$ Stunde lang bei 37° digeriert wurden und nach dem Neutralisieren Zusatz von Hammelblut und Meerschweinchenserum erfolgte, mag hierfür als Beleg dienen.

Tabelle XII.

Mengen der Normal-Salzsäure ccm	Hämolyse von Hammelblut durch 0,1 ccm Meerschweinchenserum und 0,0015 ccm Ambozeptor, letzterer mit absteigenden Säuremengen digeriert und dann neutralisiert	
	Nach 1 Stunde	Endresultat
0,01	0	mäßig
0,008	0	"
0,006	0	"
0,005	0	"
0,004	0	stark
0,003	Spürchen	komplett
0,0025	mäßig	"
0,002	stark	"
0,0015	fast komplett	"
0	komplett	"

Das aus der Tabelle ersichtliche Versuchsergebnis, dem übrigens Angaben v. Liebermanns und v. Fenyvessys¹⁾ entsprechen, steht in einem scheinbaren Gegensatz zu der oben mitgeteilten Tatsache, daß der Salzsäurezusatz auf die Bindung des Ambozeptors von nur geringgradigem Einfluß ist. Aber selbst, wenn man eine Einwirkung der Säure auf die cytophile Ambozeptorgruppe annehmen wollte, so müßte man berücksichtigen, daß die Bindung des Ambozeptors relativ rasch erfolgt, so daß bei dem Bindungsversuch im sauren Milieu die Möglichkeit gegeben ist, daß der Ambozeptor verankert ist, bevor die Salzsäure imstande ist, ihren schädigenden

1) L. v. Liebermann und B. v. Fenyvessy, Centralbl. f. Bakter., Bd. 47, 1908.

Einfluß geltend zu machen. Andererseits war eine Verzögerung des Eintritts der Hämolyse nach Bindung des Ambozeptors im sauren Milieu gelegentlich zu beobachten ¹⁾.

Der eigenartige Einfluß der Salzsäure dürfte übrigens nicht allein in einer Zerstörung der Ambozeptorfunktion eine restlose Erklärung finden. Wie bereits obiges Versuchsbeispiel zeigt, äußert sich die Salzsäurewirkung vielmehr wenigstens teilweise in einem langsameren Eintritt der Hämolyse. Gewöhnlich schreitet die Hämolyse auch in den, ursprünglich die größten Säuremengen enthaltenden, Röhrchen noch sukzessive fort, und nicht selten konnte ich in denjenigen Röhrchen, in denen nach 18-stündigem Aufbewahren noch eine Hemmung bestand, nach weiteren 24 Stunden komplette Hämolyse eintreten sehen. Es ist daher mit der Möglichkeit zu rechnen, daß eine reversible Modifikation des Ambozeptors vorliegt, die durch die Salzsäure relativ rasch entsteht, deren Umkehr aber erst allmählich erfolgt. Dafür dürfte auch die Tatsache sprechen, daß die Hemmung weit weniger markant oder auch gar nicht in Erscheinung tritt, wenn man die mit Salzsäure vorbehandelten Ambozeptorproben nach dem Neutralisieren längere Zeit (bis 48 Stunden) stehen läßt und erst dann Blut und Komplement hinzufügt. Immerhin war auch dann der Einfluß der Salzsäure an einem verzögerten Eintritt der Hämolyse kenntlich. Besser schien in einigen Versuchen die Restitution zu erfolgen, wenn die mit Salzsäure vorbehandelten Ambozeptorproben nach dem Neutralisieren zunächst mit Blut digeriert wurden und erst später Komplementzusatz erfolgte ²⁾.

Ich neige jedenfalls zu der Annahme, daß die hier beschriebenen Veränderungen des Ambozeptors wenigstens partiell reversibel sind, und möglicherweise handelt es sich um entsprechende Verhältnisse, wie sie von Morgenroth und

1) Nicht unerwähnt möchte ich lassen, daß die Hämolyse durch den mit kleinen Salzsäuremengen vorbehandelten Ambozeptor nicht selten rascher eintrat als in den Kontrollproben.

2) Erwähnt sei noch, daß es sich bei der beschriebenen Hemmungserscheinung nicht etwa um einen Einfluß des nach dem Neutralisieren entstehenden Salzes handelt. Ich habe in Kontrollversuchen die verwendeten Salzsäuremengen von vornherein neutralisiert und erst dann Ambozeptor, Blut und Komplement hinzugefügt, ohne dabei irgendwelche Hemmung der Hämolyse beobachten zu können.

Pane¹⁾ für die Salzsäuremodifikation des Cobragiftes aufgefunden wurden. Wenn wir auch vorläufig das Wesen des Vorganges dahingestellt lassen möchten, so glauben wir doch daraus, daß gerade die Salzsäure in der beschriebenen Richtung stärker zu wirken scheint, während bei der Ambozeptorbindung die Natronlauge in höherem Maße interferiert, die Folgerung ziehen zu dürfen, daß die erörterten Prozesse für die Verhinderung der Ambozeptorbindung nicht oder wenigstens nicht allein verantwortlich zu machen sind.

Die Tatsache, daß die Reaktion von Einfluß auf die Ambozeptorbindung ist, hat uns veranlaßt, auch einige Versuche vorzunehmen mit solchen normalen Ambozeptoren, die erfahrungsgemäß von den Blutkörperchen an und für sich nicht gebunden werden. Es liegt ja die Vermutung nahe, daß gerade bei normalen Ambozeptoren die relativ großen Serum-mengen als solche von Einfluß auf die Verankerung sein könnten. Ich benutzte die Ambozeptoren des normalen Rinderserums für Kaninchen- und Meerschweinchenblut und als Komplement Pferdeserum. Die Versuche hatten nur orientierenden Charakter, und da sie weder bei Zusatz von Säure noch von Alkali zu einem Ergebnisse im Sinne einer Ambozeptorbindung führten, sehe ich von der Wiedergabe ab. Ebenso führten analoge Versuche, die dahin gerichtet waren, eine Bindung des wirksamen Prinzips des Cobragiftes an Hammelblut durch veränderte Reaktion des Mediums zu erhalten, zu einem negativen Ergebnis.

III. Ueber den Einfluß der Reaktion auf das Verhalten des an die Blutzellen verankerten hämolytischen Ambozeptors.

Als wichtigstes Ergebnis der im vorhergehenden mitgeteilten Untersuchungen müssen wir die Tatsache betrachten, daß es bei geeigneter Alkaleszenz des Mediums gelingt, die Verankerung des Ambozeptors an die Blutkörperchenrezeptoren zu verhindern, und daß in geringerem Maße auch der sauren Reaktion ein analoger Einfluß zukommt. Es ergab sich daher die weitere Frage, wie sich der bereits an die Blutzellen verankerte Ambozeptor gegenüber einer veränderten Reaktion des Mediums verhält. Versuche über die Abspaltung der an die Blutkörperchen gebundenen hämolytischen Ambozeptoren liegen bisher nicht sehr zahlreich vor. Daß jedenfalls eine Abspaltbarkeit der Ambozeptoren gegeben ist, zeigt

1) J. Morgenroth und D. Pane, Biochem. Zeitschr., Bd. 1, 1906.

bereits die Untersuchungen von Morgenroth¹⁾ und Muir²⁾ [vgl. hierzu auch Philosophow³⁾], aus denen sich ergab, daß der im Ueberschuß gebundene Ambozeptor auf intakte rote Blutkörperchen überspringt. Nur ist eben in dem durch die physiologische Kochsalzlösung gegebenen Milieu die Reversibilität eine so geringe, daß es nach der von Landsteiner⁴⁾ und seinen Mitarbeitern bei Agglutininen zuerst erprobten Methode des Digerierens bei erhöhter Temperatur nicht im wesentlichen Maße gelingt, die gebundenen Immun-Ambozeptoren wieder zu extrahieren [vgl. hierzu Morgenroth (l. c.), Landsteiner und Reich⁵⁾, Tsuda⁶⁾]. Was den Einfluß der Reaktion anlangt, so liegen ältere Angaben von Hahn und Trommsdorff⁷⁾ vor, denen es gelang, aus agglutinierten Bakterien durch Digerieren mit $\frac{1}{100}$ -n. Natronlauge und fast ebensogut $\frac{1}{100}$ -n. Schwefelsäure Agglutinin wieder abzuspalten. Neuerdings haben v. Liebermann (l. c.) und v. Fenyvessy (l. c.) die Abspaltung verankerter hämolytischer Ambozeptoren durch verdünnte Salzsäurelösungen beschrieben (vgl. hierzu Meyer, l. c.).

Meine eigenen Versuche wurden mit dem schon erwähnten hämolytischen System angestellt. Einige orientierende Versuche, in denen die Blutkörperchen zunächst mit dem Ambozeptor eine zur Bindung hinreichende Zeit digeriert wurden und dann erst Alkali oder Säure hinzugefügt wurde, entsprachen den Erwartungen, indem sie zeigten, daß sich der Einfluß der Reaktion auf den verankerten Ambozeptor in gleicher Weise erstreckt, wie auf die Ambozeptorbindung.

Je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung wurden mit je 0,0015 ccm Ambozeptor 1 Stunde lang bei 37° digeriert. Sodann wurden absteigende

1) J. Morgenroth, Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 2.

2) R. Muir, The Lancet, 1903.

3) P. Philosophow, Biochem. Zeitschr., Bd. 20, 1909.

4) cf. hierzu: K. Landsteiner, Hämagglutination und Hämolyse. Handbuch der Biochemie (Oppenheimer), Bd. 2, 1. Hälfte, 1910.

5) K. Landsteiner und M. Reich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 1905.

6) K. Tsuda, diese Zeitschr., Bd. 2, 1909, gibt an, daß gebundene Normalambozeptoren mit physiologischer Kochsalzlösung viel leichter extrahiert werden können, als Immunambozeptoren.

7) M. Hahn und R. Trommsdorff, Münch. med. Wochenschr., 1900, No. 13.

Mengen von n-Natronlauge hinzugefügt. Die nunmehr ein Gesamtvolumen von je 2,15 ccm enthaltenden Röhrchen blieben wiederum 1 Stunde lang bei 37° stehen. Sodann wurde zentrifugiert. Die mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschenen Sedimente wurden in Kochsalzlösung unter Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchenserum aufgeschwemmt (Reihe A). Die Abgüsse wurden neutralisiert und sodann mit je 0,25 ccm vierfach konzentrierten Hammelblutes unter Zusatz von je 0,1 ccm Meerschweinchenserum digeriert (Reihe B).

Das Versuchsergebnis zeigt Tabelle XIII.

Tabelle XIII.

Mengen der Normal- Natronlauge ccm	Hämolyse von Hammelblut durch 0,0015 ccm Ambozeptor und 0,1 ccm Meerschweinchenserum	
	Reihe A	Reihe B
0,01	0	komplett
0,008	0	"
0,006	Spur	"
0,005	komplett	stark
0,004	"	mäßig
0,003	"	0

Da man annehmen darf, daß bei dem einstündigen Digerieren von Blut und Immunserum bei 37° die geringe Ambozeptormenge vollkommen gebunden ist, so ergibt sich aus der obigen Tabelle, daß es sich in der Tat um ein Losreißen des bereits gebundenen Ambozeptors durch das Alkali handelt. Die in den Sedimenten fehlende Ambozeptorwirkung ist in den Abgüssen anscheinend quantitativ nachweisbar.

Was den Einfluß der Salzsäure anlangt, so ist in Tabelle XIV ein Versuchsbeispiel notiert, das demjenigen in der Tabelle XIII durchaus entspricht, nur daß die Ambozeptordosis nur 0,001 ccm betrug und Rinderblut zur Verwendung kam.

Tabelle XIV.

Mengen der Normal- Salzsäure ccm	Hämolyse von Rinderblut durch 0,001 ccm Ambozeptor und 0,1 ccm Meerschweinchenserum	
	Reihe A	Reihe B
0,006	mäßig	wenig
0,005	fast komplett	0
0,004	" "	0
0,003	" "	0
0,002	" komplett	0

Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist der Einfluß der Salzsäure auf den gebundenen Ambozeptor von geringerer Stärke, was ja unseren Erfahrungen über die Ambozeptorbindung durchaus entspricht. Allerdings konnten, wie wir wiederholen möchten, größere Salzsäuremengen nicht benutzt werden, da sie bereits an und für sich hämolytisch wirken. Auch sei bemerkt, daß im ersten Röhrchen der Tabelle XV (0,006 ccm n-Salzsäure) bereits nach dem Zentrifugieren partielle Hämolyse eingetreten war, so daß der Abguß einen Teil des hämolysierten ambozeptorbeladenen Blutes enthielt. Ein sehr minimaler Einfluß ist wohl auch bei geringeren Salzsäuremengen zu konstatieren. Da aber Ambozeptor dabei im Abguß nicht nachzuweisen war, so mußte es zweifelhaft erscheinen, ob es sich hierbei um eine Abspaltung von Ambozeptoren oder um eine Schädigung des gebundenen Ambozeptors handelte.

Um die Bedingungen durchsichtiger zu gestalten, habe ich die Anordnung der Versuche derart gewählt, daß die durch Alkali- oder Säurewirkung abgespaltenen Ambozeptormengen quantitativ nachgewiesen werden konnten.

Zu diesem Zwecke wurden Blutaufschwemmungen derart sensibilisiert, daß je 1 ccm mit 0,015 ccm des Ambozeptors digeriert wurden (entsprechend etwa 10—15 Ambozeptoreinheiten). Die gewaschenen Sedimente der ambozeptorbeladenen Blutkörperchen wurden sodann mit je 10 ccm verdünnter Lösungen von Salzsäure resp. Natronlauge aufgeschwemmt. Nach einstündigem Aufenthalt bei 37° wurde abzentrifugiert, die Abgüsse wurden mit den äquivalenten Alkali- resp. Säuremengen neutralisiert und sodann in absteigenden Mengen auf ihren Ambozeptorgehalt geprüft.

Derartige Versuche habe ich sowohl mit Rinderblut, als auch mit Hammelblut ausgeführt. Es ist dabei zu bemerken, daß Salzsäure stärker auf Hammelblut einwirkt als auf Rinderblut, während für Natronlauge das Umgekehrte gilt.

Ich lasse zunächst einen Versuch mit Rinderblut folgen. Die ambozeptorbeladenen Sedimente wurden digeriert:

in A	mit	10 ccm	physiologischer Kochsalzlösung
„ B	„	10	„ 1/100-n. Salzsäure
„ C	„	10	„ 1/400-n. „
„ D	„	10	„ 1/800-n. „

in E mit 10 ccm $\frac{1}{100}$ -n. Natronlauge
 „ F „ 10 „ $\frac{1}{200}$ -n. „
 „ G „ 10 „ $\frac{1}{400}$ -n. „
 „ H „ 10 „ $\frac{1}{800}$ -n. „

Digerieren mit $\frac{1}{100}$ -n. Salzsäure wurde auch vorgenommen, jedoch erwies sich das Blut danach fast vollständig gelöst, so daß eine Titrierung der lackfarbenen Lösung unterblieb. Im übrigen waren die Abgüsse von B stark rot gefärbt, von E mäßig und von F wenig gerötet infolge partieller Hämolyse, die übrigen Abgüsse waren farblos. Das Ergebnis des Versuchs ist in Tabelle XV notiert.

Tabelle XV.

Mengen der Abgüsse ccm	Hämolyse von Rinderblut durch 0,05 ccm Meerschweinchenserum und absteigende Mengen der Abgüsse							
	A	B	C	D	E	F	G	H
	NaCl	$\frac{n}{200}$ -HCl	$\frac{n}{400}$ -HCl	$\frac{n}{800}$ -HCl	$\frac{n}{100}$ -NaOH	$\frac{n}{200}$ -NaOH	$\frac{n}{400}$ -NaOH	$\frac{n}{800}$ -NaOH
1,0	Spur	komplett	mäßig	Spürchen	komplett	komplett	komplett	Spürchen
0,5	0	„	Spur	0	„	„	wenig	0
0,25	0	wenig	0	0	„	stark	Spürchen	0
0,15	0	0	0	0	stark	mäßig	0	0
0,1	0	0	0	0	mäßig	wenig	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß sowohl in den sauren als auch in den alkalischen Abgüssen Ambozeptoren vorhanden waren, während solche in dem durch Digerieren der ambozeptorbeladenen Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung erhaltenen Abgüsse (Reihe A) höchstens in minimalen Mengen nachgewiesen werden konnten¹⁾. Ein Vergleich der entsprechenden Reihen der Tabelle zeigt bereits, daß durch Natronlauge sicherlich größere Ambozeptormengen erhalten wurden, als durch Säure. Es ist aber außerdem zu berücksichtigen, daß in Reihe B, in der $\frac{1}{200}$ -n. Salzsäure zum Digerieren des ambozeptorbeladenen Blutes gedient hatte, bereits durch Salzsäurewirkung eine sehr starke Hämolyse eingetreten war. Man muß daher mit der Möglichkeit rechnen, daß der

1) Diese Tatsache dürfte nicht im Gegensatz zu den von Tsuda (l. c.) erhobenen Befunden stehen, weil bei der diesem Autor gelungenen Extraktion gebundener Immunambozeptoren durch Kochsalzlösung höhere Temperaturen und offenbar auch andere Mengenverhältnisse vorlagen.

Ambozeptor durch die Salzsäure nicht abgespalten worden ist, sondern von den gelösten Komplexen „Rezeptor-Ambozeptor“ auf die intakten Blutkörperchen überspringen konnte. Dieser Einwand läßt sich freilich den Natronlaugenversuchen E und F gegenüber auch erheben, wenn auch darauf hingewiesen werden muß, daß hier die schädigende Wirkung der Natronlauge erheblich geringer war, als diejenige der Salzsäure in Versuch B. Jedenfalls aber mußte die Heranziehung des Hammelblutes hier besonders wünschenswert erscheinen, weil das Hammelblut der Natronlauge gegenüber erheblich resistenter war als Rinderblut. Andererseits wurde es durch Salzsäure in stärkerem Maße angegriffen, so daß ich hierbei von einem Digerieren mit $\frac{1}{100}$ -n. Lösung ganz absah. Aber auch der Abguß des mit $\frac{1}{200}$ -n. Salzsäure digerierten ambozeptorbeladenen Hammelblutes kam nicht zur Verwendung, da auch in dieser Konzentration die Salzsäure eine sehr starke Hämolyse bedingt hatte.

Die Sedimente des ambozeptorbeladenen Hammelblutes wurden demnach digeriert:

in Versuch A mit 10 ccm	physiologischer Kochsalzlösung
„ „ B „ 10 „	$\frac{1}{400}$ -n. Salzsäure
„ „ C „ 10 „	$\frac{1}{800}$ -n. „
„ „ D „ 10 „	$\frac{1}{200}$ -n. Natronlauge
„ „ E „ 10 „	$\frac{1}{400}$ -n. „
„ „ F „ 10 „	$\frac{1}{800}$ -n. „

Nach einstündigem Aufenthalt bei 37° war nur bei der Probe B partielle Hämolyse eingetreten, im übrigen wurden klare Abgüsse erhalten. Die Titrierung der neutralisierten Abgüsse auf ihren Ambozeptorgehalt zeigt Tabelle XVI.

Tabelle XVI.

Mengen der Abgüsse ccm	Hämolyse von Hammelblut durch 0,1 ccm Meerschweinchen- serum und absteigende Mengen der Abgüsse					
	A	B	C	D	E	F
	NaCl	$\frac{n}{400}$ -HCl	$\frac{n}{800}$ -HCl	$\frac{n}{200}$ -NaOH	$\frac{n}{400}$ -NaOH	$\frac{n}{800}$ -NaOH
1,0	Spur	komplett	wenig	komplett	komplett	komplett
0,5	0	„	Spur	„	„	stark
0,25	0	mäßig	Spürchen	„	„	wenig
0,15	0	Spur	0	„	fast kpl.	Spürchen
0,1	0	Spürchen	0	„	mäßig	„
0,05	0	0	0	mäßig	Spur	0
0,025	0	0	0	Spürchen	Spürchen	0
0,015	0	0	0	0	0	0

Im Prinzip stimmt also das Ergebnis dieses mit Hammelblut ausgeführten Versuches mit den bei Verwendung von Rinderblut erhaltenen Erfahrungen gut überein. Es zeigt sich hier nur noch deutlicher der Unterschied zwischen der Wirkung der Natronlauge und der Salzsäure. Die Abgüsse der mit letzterer behandelten ambozeptorbeladenen Blutkörperchen enthalten auch Ambozeptoren, aber in wesentlicher Menge nur in der Probe B, in der bereits die Salzsäure einen nicht unerheblichen Teil des Blutes gelöst hat. Von stärkerer Wirkung erweisen sich die mit Natronlauge hergestellten Extrakte. Hier war auch bei der stärksten zur Verwendung gelangten Alkalikonzentration ($\frac{1}{200}$ -n. Natronlauge) eine sichtliche Schädigung des Blutes nicht eingetreten. Dieser Extrakt enthielt, wie die Tabelle zeigt, mindestens 10 Ambozeptoreinheiten im Kubikzentimeter. Da die Ambozeptoreinheit des zur Vorbehandlung des Blutes dienenden Immunserums 0,001 ccm betrug, zur Sensibilisierung des Blutes aber 0,015 ccm Ambozeptor pro Kubikzentimeter Blutaufschwemmung verwendet wurde, so ergibt sich, daß man von einer sehr weitgehenden Wiedergewinnung des gebundenen Ambozeptors sprechen kann. Unter der Voraussetzung, daß beim Sensibilisieren der gesamte Ambozeptor gebunden worden war, hätte man nämlich bei quantitativer Restitution einen Gehalt des Extraktes von 15 Ambozeptoreinheiten pro Kubikzentimeter erwarten müssen.

Analoge Extraktionsversuche haben wir auch im salzfreien Medium ausgeführt, indem die ambozeptorbeladenen Blutkörperchen (0,015 ccm Ambozeptor pro Kubikzentimeter) mit verdünnten Lösungen von Natronlauge und Salzsäure in 7,8-proz. Rohrzuckerlösung digeriert wurden. Da diese Versuche zu einem prinzipiell gleichartigen Ergebnis führten, sehe ich von einer detaillierten Wiedergabe der Versuchsprotokolle ab.

Den Vorgang der Extraktion der gebundenen Ambozeptoren durch Natronlauge habe ich noch näher zu analysieren gesucht, und zwar dienten zu den weiteren Untersuchungen Hammelblut und Lösungen von $\frac{1}{200}$ -n. Natronlaugegehalt. Zunächst sollte über die Bedeutung der Menge des gebundenen Ambozeptors entschieden werden.

Es wurden daher die Sedimente von je 10 ccm Hammelblutaufschwemmung mit je 10 ccm $\frac{1}{100}$ -n. Natronlauge 1 Stunde bei 37° digeriert. Die Blutsedimente waren vorbehandelt:

- A mit 0,85-proz. Kochsalzlösung (Kontrolle),
- B mit 0,015 ccm Ambozeptor,
- C mit 0,05 ccm Ambozeptor,
- D mit 0,15 ccm Ambozeptor.

Die gleichzeitig mit den folgenden Versuchsreihen ermittelte Ambozeptoreinheit des zur Verwendung gelangten Ambozeptors betrug 0,00125 ccm. Die Blutkörperchensedimente waren also vorbehandelt:

- A mit 12 Ambozeptoreinheiten,
- B mit etwa 40 Ambozeptoreinheiten,
- C mit 120 Ambozeptoreinheiten.

Die Abgüsse wurden neutralisiert und in üblicher Weise auf Ambozeptorgehalt titriert. Das Ergebnis ist in Tabelle XVII angegeben.

Tabelle XVII.

Mengen der Abgüsse ccm	Hämolyse von Hammelblut durch 0,05 ccm Meerschweinchenserum und absteigende Mengen der Abgüsse			
	A	B	C	D
1,0	Spürchen	komplett	komplett	komplett
0,5	0	mäßig		
0,25	0	Spuren	fast kpl.	"
0,15	0	Spürchen	wenig	"
0,1	0	0	"	stark
0,05	0	0	Spürchen	wenig
0,025	0	0	0	Spürchen
0,015	0	0	0	0
Hämolyse von je 1 ccm der mit NaOH behandelten und mit 0,85-proz. NaCl ad 10 ccm aufgeschwemmten Sedimente bei Komplementzusatz	0	Spürchen	stark	komplett

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Wirksamkeit der Abgüsse proportional mit der zur Sensibilisierung benutzten Ambozeptormenge zunimmt. In den Reihen B und C ist die Wiedergewinnung des Ambozeptors eine fast vollständige; denn in dem Abguß B sind 10 Ambozeptoreinheiten (von 12) enthalten, in dem Abguß C >20 und <40 (von 40). In dem Abguß D sind freilich nur etwa 70 Ambozeptoreinheiten nachweisbar, während ursprünglich 120 angewendet wurden. Es ist aber die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß nicht der gesamte Ambozeptor von den roten Blutkörperchen gebunden worden ist. Wenn auch

nähere Untersuchungen darüber nicht ausgeführt wurden, so läßt sich doch schließen, daß mindestens 10 Ambozeptoreinheiten bei der Natronlaugebehandlung am Blute gebunden geblieben sind. Das ergibt sich aus der unteren Querspalte der Tabelle XVIII, in der das Verhalten der mit Natronlauge behandelten Sedimente bei Zusatz von Komplement notiert ist. Es zeigt sich hier, daß 1 ccm der auf das ursprüngliche Volumen von 10 ccm gebrachten Sedimentaufschwemmung komplett gelöst wird, also mindestens eine Ambozeptoreinheit enthält. Dagegen sind in dem Sediment der Reihe C weniger als 10 Ambozeptoreinheiten zurückgeblieben, im Sediment B nur Ambozeptorspuren. Es ergibt sich daraus, daß die Losreißung bei geringen Ambozeptormengen annähernd quantitativ erfolgte, daß aber auch ein erheblicher Ueberschuß von gebundenen Ambozeptoreinheiten extrahiert werden kann. Im allgemeinen scheint es also den tatsächlichen Verhältnissen zu entsprechen, wenn man annimmt, daß die Losreißung des Ambozeptors durch Natronlauge eine unvollständige ist, derart, daß bei kleinen Ambozeptormengen der Ambozeptor praktisch vollständig extrahiert wird, bei größeren Ambozeptormengen aber nachweisbare Reste gebunden bleiben. Die extrahierbare Ambozeptormenge dürfte daher keine absolute sein, vielmehr mit dem Sensibilisierungsgrade zunehmen.

Ferner wurde die Zeit bestimmt, welche zur Losreißung des gebundenen Ambozeptors mittels Natronlauge erforderlich ist. Jedoch handelte es sich hierbei nur um wenige orientierende Versuche. Dieselben führten aber jedenfalls zu dem Ergebnis, daß nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Digerieren des ambozeptorbeladenen Blutes mit $\frac{1}{200}$ -n. Natronlauge die Extraktion bereits eine maximale ist. Der Vorgang spielt sich also sicherlich sehr rasch ab.

Was endlich den Einfluß der Temperatur auf den Prozeß anlangt, so habe ich vergleichende Untersuchungen angestellt, indem ich das ambozeptorbeladene Blut einerseits bei 0°, andererseits bei 37° mit $\frac{1}{200}$ -n. Natronlauge digerierte.

Die Sensibilisierung des Hammelblutes geschah in dem folgenden Versuchsbeispiel mit 0,015 ccm Ambozeptor pro Kubikzentimeter Blutaufschwemmung (entsprechend 10—15 Ambozeptoreinheiten). Für den Versuch

bei 0° wurden natürlich das ambozeptorbeladene Blutsediment, wie auch die Natronlauge vorer auf 0° abgekühlt, und ich bemühte mich, die Trennung des Abgusses durch Zentrifugieren möglichst rasch erfolgen zu lassen. Das Ergebnis zeigt Tabelle XVIII.

Tabelle XVIII.

Mengen des Abgusses ccm	Hämolyse von Hammelblut durch 0,05 ccm Meerschweinchenserum und absteigende Mengen des Abgusses nach Digerieren	
	A bei 0°	B bei 37°
1,0	komplett	komplett
0,5	"	"
0,25	"	"
0,15	mäßig	fast komplett
0,1	wenig	mäßig
0	0	0

Der durch Digerieren bei 0° erhaltene Abguß weist also eine etwas geringere Wirksamkeit auf als der bei 37° gewonnene. Immerhin ist der Unterschied geringfügig und man kann daher sagen, daß das Abreißen der gebundenen Ambozeptoren durch Natronlauge bei 0° fast ebenso gut erfolgt wie bei 37°.

IV. Schlußbetrachtung.

Als wichtigstes Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen glaube ich den Umstand betrachten zu dürfen, daß die Bindung des Ambozeptors an die Blutkörperchen von der Reaktion des Mediums abhängt. So weit sich aus meinen Untersuchungen schließen läßt, stellt besonders die alkalische Reaktion ein Hemmnis für die Verankerung des Ambozeptors dar, und ebenso gelingt es, den bereits gebundenen Ambozeptor durch Alkalilösung wieder zu extrahieren. Jedoch möchte ich der Salzsäure eine entsprechende Wirkung nicht absprechen, wenn man auch annehmen darf, daß die entsprechende Funktion der sauren Reaktion — wenigstens bei dem von mir benutzten System — nicht im gleichen Maße nachweisbar ist. Die Verhinderung der Ambozeptorbindung durch Alkali steht in Uebereinstimmung mit der Annahme, welche ursprünglich v. Liebermann (l. c.) aus experimentellen Untersuchungen gezogen und im Sinne einer Säurenatur des Ambozeptors verwertet hat. Allerdings reichten

die damaligen Versuche v. Liebermanns zu der Folgerung nicht aus. Später hat der Autor¹⁾ seine Ansicht auf Grund einer Arbeit v. Eislers²⁾ dahin modifiziert, daß sich die Alkaliwirkung wesentlich auf das Komplement erstreckt. Aber mit Recht wird von v. Liebermann hervorgehen, daß sich aus den Versuchen v. Eislers immerhin eine Hemmung der Ambozeptorbindung durch Alkali ergibt. Allerdings reichte dieselbe an den starken Einfluß, der sich in unseren Untersuchungen ergeben hat, nicht heran. Vielleicht findet die Differenz der Ergebnisse darin eine Erklärung, daß die hier behandelten Erscheinungen von der Individualität der Ambozeptoren in höherem Maße abhängig sind, als man es von vornherein erwarten durfte³⁾.

Michaelis und Skwirsky⁴⁾, die neuerdings den Einfluß der Reaktion auf die Hämolyse mittels Phosphatgemischen untersuchten, konnten eine Hemmung der Ambozeptorbindung durch erhöhte Acidität des Mediums nicht nachweisen, was insofern mit meinen Untersuchungen übereinstimmt, als ich den Einfluß der sauren Reaktion, wenn überhaupt vorhanden, so nur von untergeordneter Dignität fand. Ferner hat Moruzzi⁵⁾ Versuche beschrieben, in denen es ihm nicht gelang, einen hemmenden Einfluß von Alkali und Säure auf die Ambozeptorbindung nachzuweisen, doch lassen die von Moruzzi angeführten Daten eine quantitative Beurteilung nicht zu.

Wenn ich auf Grund meiner Befunde auch der ursprünglich von v. Liebermann vertretenen Ansicht beipflichten muß, so glaube ich doch nicht, daraus einen Schluß auf die Natur des Ambozeptors ziehen zu dürfen. Denn meine Ver-

1) L. v. Liebermann, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 47, 1908.

2) M. v. Eisler, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 46, 1908; cf. auch diese *Zeitschr.*, Bd. 2, 1909.

3) Neuere Erfahrungen scheinen auch in diesem Sinne zu sprechen, indem bei manchen Ambozeptoren die Behinderung der Bindung durch Alkali wenig ausgesprochen war. Einige Beobachtungen deuteten darauf hin, daß das Phänomen möglicherweise markanter in Erscheinung tritt, wenn eine verwandte Blutart benutzt wird (etwa Rinderblut-Kaninchenserum + Hammelblut), als wenn der Ambozeptor mit der homologen Blutart reagiert (Hammelblut-Kaninchenserum + Hammelblut).

4) L. Michaelis und P. Skwirsky, *diese Zeitschr.*, Bd. 4, 1909.

5) G. Moruzzi, *Compt. rend. Soc. de Biol.*, 1910, No. 5 und 9.

suche über die Extraktion des gebundenen Ambozeptors stehen in einem gewissen Gegensatz zu denjenigen v. Liebermanns und v. Fenyvessys. Diese Autoren haben angegeben, durch Behandlung der ambozeptorbeladenen Blutkörperchen mit Säuren zu einer Wiedergewinnung des Ambozeptors gelangt zu sein, und haben diesen Befund gleichfalls im Sinne der Säurenatur des Ambozeptors bewertet. Im Gegensatz dazu ist es mir gerade durch Verwendung von Alkali gelungen, den gebundenen Ambozeptor in sehr erheblichem Maße wiederzugewinnen, während die Säurebehandlung zu einer geringeren Ausbeute führte. Zur Erklärung dieses Gegensatzes wird man zunächst berücksichtigen müssen, daß ich andere hämolytische Systeme als die genannten Autoren verwendete. v. Liebermann und v. Fenyvessy arbeiteten mit Schweineblut, und es ist sehr wohl denkbar, daß die Wahl der Blutart bei derartigen Untersuchungen von differenter Bedeutung ist. Ferner möchte ich auch an dieser Stelle darauf hinweisen, daß die Säurekonzentrationen, auch in den Versuchen v. Liebermanns und v. Fenyvessys, so große sind, daß eine erhebliche Hämolyse und Alteration des Blutes dabei unvermeidlich ist. Es kann daher zweifelhaft erscheinen, ob die Wiedergewinnung des Ambozeptors durch Säurewirkung im Sinne einer Trennung der Verbindung Rezeptor-Ambozeptor aufzufassen ist. Man kann, wie schon erwähnt, einerseits daran denken, daß der Ambozeptor von seiner Rezeptorverbindung auf frisch zugesetzte Blutkörperchen überspringt, andererseits könnte auch durch die verschiedenen Manipulationen eine Schädigung oder Zerstörung der Blutkörperchenrezeptoren stattfinden und ein Freiwerden der Ambozeptoren bedingen. Eindeutiger dürften daher die von mir mitgeteilten Untersuchungen mittels Natronlauge erscheinen, denn hier ist es ohne sichtliche Schädigung der Blutkörperchen gelungen, den Ambozeptor in umfangreichem Maße zu extrahieren. Wenn ich nun auch der Salzsäure eine entsprechende Wirkung nicht absprechen will, so ergibt sich doch zum mindesten, daß sowohl Säure als auch Alkali imstande sind, die Bindung des Ambozeptors rückgängig zu machen. Berücksichtigt man noch, daß wohl für die beschriebenen Wirkungen mehr die Konzentration als die absolute Menge

von Säure und Alkali maßgebend ist, so dürfte es schwer sein, aus derartigen Untersuchungen Schlußfolgerungen auf die Natur des Ambozeptors zu ziehen.

Wenn meine Untersuchungen auch unzweifelhaft zeigen, daß die Reaktion des Mediums auf die Ambozeptorbindung von Einfluß ist, so ergibt sich daraus natürlich keineswegs eine restlose Erklärung für die verschiedenartigen Einflüsse, welche Alkali oder Säure auf die Hämolyse ausüben. Wenn wir hier von den zerstörenden Wirkungen, die sich insbesondere auf das Komplement beziehen können, absehen, so wird man für die Natronlauge einen hemmenden Einfluß auf die Komplementwirkung nicht ausschließen können. Für die von Hecker mitgeteilten Befunde, nach denen durch Digerieren des Komplements mit Natronlauge die Hämolyse aufgehoben wird, aber nach dem Neutralisieren wieder in Erscheinung tritt, wird man freilich mindestens neben einer inaktiven Modifikation des Komplements auch einen Einfluß des Alkalis auf die Ambozeptorbindung annehmen müssen.

Was den Einfluß der sauren Reaktion anlangt, so ist ja die dadurch bedingte Hemmung der Hämolyse neuerdings von Michaelis und Skwirsky¹⁾ untersucht und als Ursache der Hemmung die Verhinderung der Komplementbindung resp. bei großen Ambozeptordosen die Verhinderung der Wirkung des Endstücks als Ursache angesprochen worden. Die von uns in Uebereinstimmung mit früheren Angaben von v. Liebermann, sowie Sachs und Altmann aufgefundene Beschleunigung der Hämolyse durch Säure steht dazu in keinem Gegensatz; denn die beschleunigende Wirkung der Salzsäure war nur in einer relativ engen Zone wahrzunehmen, die etwa einem Salzsäuregehalt von $1/600$ — $1/600$ -n. Salzsäure entsprach. Da ein beschleunigender Einfluß der sauren Reaktion auf die Ambozeptorbindung nicht in Frage kommen dürfte, so könnte sich der beschleunigende Einfluß vielleicht irgendwie auf die Komplementwirkung resp. die Funktion des komplementophilen Apparates beziehen. Offenbar liegen recht komplizierte Verhältnisse vor, und der Einfluß der Reaktion auf die Hämolyse stellt wahrscheinlich die Resultante ver-

1) L. Michaelis und P. Skwirsky, l. c., und diese Zeitschr., Bd. 4, 1910, Heft 5.

schiedener Vorgänge dar, zu deren vollständiger Analyse es noch weiterer Untersuchungen bedürfen wird.

Zusammenfassung.

1) Die Hämolyse durch immunisatorisch erzeugte Ambozeptoren und Komplement wird durch Alkali (Natronlauge) gehemmt, ohne daß bei der entsprechenden Konzentration eine Zerstörung der wirksamen Stoffe stattfindet. Salzsäure bewirkt in geringen Konzentrationen eine Beschleunigung der Hämolyse.

In gleichem Sinne konnte ein Einfluß von Alkali und Säure auf die im Rinderserum vorhandenen normalen Hämolytine festgestellt werden, während bei der Untersuchung eines im Meerschweinchenserum vorhandenen normalen Hämolytins ein beschleunigender Einfluß der Salzsäure nicht nachzuweisen war.

2) In den zur Bestimmung des Einflusses der Reaktion auf die Ambozeptorbindung vorgenommenen Untersuchungen zeigte es sich, daß Alkali in geeigneter Konzentration die Ambozeptorbindung verhindern kann. Von wesentlich geringerer Wirkung zeigte sich der Einfluß von Salzsäure.

3) Bei den in Betracht kommenden Konzentrationen konnte ein schädigender Einfluß der Natronlauge auf die Blutkörperchenrezeptoren nicht beobachtet werden. Die Ambozeptoren scheinen durch Natronlaugebehandlung nur geringgradige Schädigung zu erleiden. Tiefgreifender erwies sich der Einfluß von Salzsäure auf den Ambozeptor.

4) Es gelang durch Behandeln ambozeptorbeladener Blutkörperchen mit verdünnten Lösungen von Natronlauge den Ambozeptor im wirksamen Zustande wieder zu gewinnen. Bei Verwendung von Salzsäure wurde eine entsprechende, aber schwächere Wirkung beobachtet, deren Auffassung aber insofern Schwierigkeiten bot, als die geeigneten Säurekonzentrationen bereits zu einer mehr oder minder starken Hämolyse des ambozeptorbeladenen Blutes führten.

5) Die Extraktion des gebundenen Ambozeptors mittels Natronlauge erfolgte in ziemlich rascher Zeit und fast ebenso gut bei 0° wie bei 37°.

Nachdruck verboten.

[Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen. Direktor:
Dr. Th. Madsen.]

Die Einwirkung verschiedener Alkohole auf Antigene und ähnliche Körper.

Von **L. E. Walbum**, Abteilungsvorsteher des Instituts.

Mit 1 Kurve im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Juli 1910.)

Einleitung.

Das Verhalten des monovalenten, sekundären aromatischen Alkohols Cholesterin gegenüber den Antigenen ist eingehend untersucht worden, namentlich deshalb, weil das Cholesterin außerordentlich häufig in der lebenden Natur vorkommt, so häufig, daß man angenommen hat, es oder seine Verbindungen seien in jeder Zelle zu finden.

Wegen dieses häufigen Vorkommens hat man schon seit längerem die Annahme aufgestellt, daß die Cholesterine eine große physiologische Bedeutung haben. Während aber über das Lecithin (welches sehr oft mit dem Cholesterin zusammen vorkommt) mehrere Beobachtungen vorliegen, welche die große Bedeutung dieses Körpers für die Entwicklung des lebenden Organismus dartun, ist man noch nicht sicher, ob das nie in der Zelle fehlende Cholesterin als ein Abfallprodukt des Stoffwechsels der Zelle angesehen werden muß oder als ein Körper, welcher wie das Lecithin große Bedeutung für das Leben und die Entwicklung der Zelle zu haben scheint.

Liebreich (1) war der Meinung, daß das Cholesterin die Aufgabe habe, eine schützende Schicht für die äußere Haut zu bilden, indem er die durch die Epidermis ausgeschiedenen Cholesterinester mit Pflanzenwachs analogisierte. Nachdem man aber auf die neutralisierenden und deshalb unschädlichmachenden Eigenschaften des Cholesterins gegenüber einigen für die Erythrocyten außerordentlich gefährlichen Giften (Saponin, Tetanolysin und Schlangenhämotoxin) aufmerksam geworden war, sprach Pribram (2) die Anschauung aus, daß die Cholesterine im lebenden Gewebe die Aufgabe haben, den Organismus gegen verschiedene endogen gebildete oder von

außen her zugeführte, hämolytisch wirksame Gifte zu schützen. Die Annahme, daß diese Verbindungen tatsächlich eine Art von Schutz gegen verschiedene dem Organismus drohende Gefahren zu leisten scheinen, wird auch von der unten zu ermittelnden Beobachtung gestützt, daß Cholesterin schon in sehr minimalen Mengen imstande ist, das phagocytäre Vermögen der Leukocyten in außerordentlich hohem Grade zu vermehren, was vermuten läßt, daß das Cholesterin vielleicht eine sehr große Rolle beim Verlaufe derartiger Prozesse spielt.

Es scheint also, daß in dieser Richtung Verhältnisse bestehen, welche eingehend studiert werden müssen. Da das animalische Cholesterin und das vegetabilische Phytosterin einander sehr nahestehende Körper sind, darf man vielleicht vermuten, daß Phytosterin (welches auch verschiedene Gifte neutralisiert) in dieser Beziehung dieselbe Bedeutung für die Pflanzen habe wie das Cholesterin für die Tiere. Versuche in dieser Richtung sind aber niemals angestellt worden.

Im Gegensatz zu vielen anderen Protoplasmabestandteilen können das Cholesterin und seine Isomeren jedenfalls zum Teil chemisch charakterisiert werden, was in Gemeinschaft mit den oben erwähnten interessanten Eigenschaften das Cholesterin u. a. für das Studium des Verhaltens der Toxine gegenüber den Antitoxinen sehr wertvoll macht.

Es liegen auch mehrere Untersuchungen vor, welche u. a. das toxinbindende Vermögen des Cholesterins bestimmten Atomgruppen seiner Moleküle beimessen, und es läßt sich keineswegs als unwahrscheinlich bezeichnen, daß es eben durch anhaltende Untersuchungen in dieser Richtung möglich werden wird, wertvolle Aufschlüsse u. a. über die empirische Zusammensetzung der Toxine und vielleicht über die Gruppierung der Atome in ihrer antitoxinbindenden Gruppe zu erzielen.

Die Untersuchungen von Hausmann (3) nebst Abderhalden und le Count (4) deuteten an, daß das toxinbindende Vermögen an die freien Hydroxylgruppen geknüpft war, denn wurden diese substituiert, war sofort jede antitoxische Wirkung verschwunden.

Falls das Cholesterin, wie es aus diesen Untersuchungen hervorzugehen scheint, tatsächlich der freien Hydroxylgruppe sein toxinbindendes Vermögen verdankt, könnte man ja im

voraus vermuten, daß unter den chemisch bekannten Körpern eine außerordentlich große Menge Verbindungen zu finden wären, welche als Antitoxine auftreten können, und zwar alle Verbindungen mit freien Hydroxylgruppen; erstens also alle Alkohole. Durch diese Erwägungen geleitet, habe ich eine Reihe Untersuchungen über das Verhalten einiger aliphatischen und aromatischen Alkohole den Hämolsinen und Toxinen gegenüber unternommen, und wenn es sich auch nicht aus diesen Untersuchungen herausstellte, daß die Wirkung dieser Verbindungen durch die freien Hydroxylgruppen bedingt war, haben die Untersuchungen doch zu der Entdeckung von ausgesprochenen toxinbindenden Eigenschaften einer Reihe chemisch definierbarer Verbindungen geführt. Ehe ich aber auf diese Untersuchungen eingehe, muß ich meine Cholesterinuntersuchungen erwähnen.

Die Mehrzahl der Antigene, welche hier verwendet worden sind, waren Körper von hämolytischem Charakter, und zwar Saponin, Solanin, Cobragift, Vibriolysin, Tetanolysin, Staphylolysin und Schafblutimmunsérum.

Die zwei ersten Körper waren Präparate von Merck. Vibriolysin und Staphylolysin wurden hergestellt durch Züchtung von *Vibrio Nasik* und einem *Staphylococcus* in gewöhnlicher alkalischer Fleischbrühe aus Kalbfleisch mit Zusatz von 2 Proz. Pepton Witte. Die Kulturen wurden 10 Tage in dem Brutschrank (37 °) gestellt. Das Tetanolysin wurde durch 10-tägige anaërobe Züchtung im Brutschrank (37 °) dargestellt, und als Substrat habe ich gewöhnliche, schwach alkalische Kalbfleischbrühe mit 1 Proz. Traubenzucker und 2 Proz. Pepton Witte verwendet. Nach Filtration durch dichtes Papier wurden die Hämolsine unter Toluol im Dunkeln bei ca. 2° aufgehoben. Das Schafblutimmunsérum stellte ich durch Immunisieren von Kaninchen mittels gewaschener Schaferythrocyten her.

Die Technik, welche für die quantitative Messung der Hämolsine verwendet wurde, war die im hiesigen Institut übliche (5).

I. Versuche mit Cholesterin.

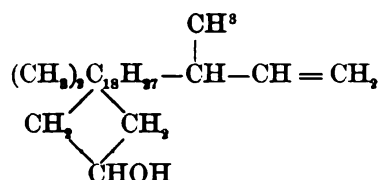
Die Chemie des Cholesterins.

Das bis jetzt am besten untersuchte Glied der Cholesteringruppe ist das menschliche, aus Gallensteinen dargestellte Cholesterin. In chemischer Beziehung läßt sich das Cholesterin recht gut charakterisieren. Durch die Arbeiten u. a. von Obermüller (6) nebst Mauthner und Suida (7) ist es sicher dargetan, daß die Verbindung 27 Kohlenstoffatome enthält; die letzterwähnten Autoren haben die Formel $C_{27}H_{44}O$ in Vorschlag gebracht, doch ist es infolge neuerer Untersuchungen, namentlich von Diels und Abderhalden (8) sehr wahrscheinlich gemacht, daß die Verbindung noch zwei Wasserstoffatome enthält und somit die Formel $C_{27}H_{46}O$ hat, welche übrigens längst von Reinitzer (9) vorgeschlagen war, als die Arbeiten von Mauthner und Suida erschienen. Das Cholesterin kann als ein ungesättigter, monovalenter, sekundärer aromatischer Alkohol charakterisiert werden. Sein ungesättigter Charakter rührt von einer Doppelbindung im Molekül her. Die Anwesenheit dieser ist von Windaus (10) nebst Doree und Gardner (11) nachgewiesen worden; es gelang diesen gleichzeitig, es wahrscheinlich zu machen, daß die nämliche Bindung beim letzten Glied einer aliphatischen Seitenkette zu finden war. Und es gelang Windaus (12) im Jahre 1907, durch Reduktion mit Natrium in amyloalkoholischer Lösung zwei Wasserstoffatome dem Phytosterin anstatt Halogen zu addieren und somit Dihydrophytosterin darzustellen. Obwohl die Doppelbindung des Moleküls dadurch gehoben war, vermochte das Dihydrophytosterin noch zwei Halogenatome zu addieren, welches Windaus auf die Weise erklärte, daß das Phytosterinmolekül zwei Doppelbindungen enthält, aus welchen die eine mit Wasserstoff und die andere mit Halogen reagiert. Vor kurzem hat Doree (13) es sogar sehr wahrscheinlich gemacht, daß auch das Cholesterinmolekül zwei Doppelbindungen besitzt. Für seine Untersuchungen hat er die erst von Harries (14) angegebene und später von Molinari (15) empfohlene Methode zur Charakterisierung ungesättigter Verbindungen verwendet, und zwar Ozonbehandlung, wodurch jede Doppelbindung durch Aufnehmen von 1 Molekül Ozon gesättigt wird. Auf diese Weise stellte Molinari (16) durch Behandlung des Phytosterins die Verbindung $C_{27}H_{44}O \cdot O_3$ dar, woraus hervorgeht, daß Phytosterin wahrscheinlich zwei Doppelbindungen enthält. Ein ganz entsprechendes Verhältnis ist, wie oben erwähnt, von Doree für das Cholesterin nachgewiesen.

Nach einer Zusammenfassung von Windaus (17) läßt sich bereits mit Sicherheit folgendes von der Zusammensetzung des Cholesterins sagen: „Das Cholesterin besitzt die Formel $C_{27}H_{46}O$. Es ist ein einwertiger, einfach ungesättigter, sekundärer Alkohol, dessen Hydroxylgruppe in einem hydrierten Ring, und zwar zwischen zwei Methylengruppen, steht. Die Doppelbindung findet sich in einer endständigen Vinylgruppe ($CH:CH_2$), und zwar in δ , ϵ (oder ϵ , φ) Stellung zum Hydroxyl. Das Molekül des Cholesterins enthält eine Isopropylgruppe. Aus der Zahl der Wasserstoffatome folgt, daß im ganzen im Cholesterin vier gesättigte hydrierte Ringe

vorhanden sind. Das Cholesterin ist dadurch mit Sicherheit als kompliziertes Terpen charakterisiert.“

Diesen Erscheinungen zufolge darf man untenstehende Cholesterin-formel angeben :



Ferner hat Stein (18) die vollständige Konstitutionsformel aufzustellen versucht (übrigens auch $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$).

Hämolyse. Die ersten Versuche nachzuweisen, ob das antitoxische Vermögen des Cholesterins an bestimmte, leicht charakterisierbare Atomgruppen des Moleküls geknüpft wäre, wurden von Hausmann (19) publiziert, und er behauptete, gleich wie Abderhalden und Le Count (20), daß die Anwesenheit der freien Hydroxylgruppe eine Bedingung für die Antiwirkung des Cholesterins ist, und ferner, daß die Hebung der Doppelbindung die antitoxische Wirkung herabsetzt, ohne dieselbe völlig aufzuheben. Auf diesem Gebiete sind nur diese zwei Abhandlungen publiziert und keinerseits weder bestritten noch berichtigt worden. In den obenerwähnten Arbeiten von Hausmann, Abderhalden und Le Count, wie übrigens mit kleinen Variationen in allen früher publizierten, die Verwendung des Cholesterins als Antihämolytikum behandelten Arbeiten, sind Cholesterin und Cholesterinderivate alle in Aethyläther, Methyl- oder Aethylalkohol gelöst zur Anwendung gekommen. Die hämolytischen Körper, welche für die erwähnten Untersuchungen verwendet worden sind, dagegen immer in wässriger Lösung. In welcher Reihenfolge diese Hämolyse und Cholesterinlösungen auch pipettiert werden, wird immer eine größere oder geringere Cholesterinmenge sich als amorphe Klümpchen ausscheiden. Die ausgeschiedene Menge wird natürlicherweise u. a. von der Konzentration der Flüssigkeit und den Mengenverhältnissen zwischen der wässrigen und der ätherischen bzw. alkoholischen Lösung abhängig sein, und es verhält sich sicher so, daß das Cholesterin nur seine toxinbindenden Eigenschaften

zu entfalten vermag, wenn es in fein verteiletem Zustande sich findet, und nicht bei gröberer Verteilung. Da man indessen nie diese Verhältnisse berücksichtigt hat, aber immer die wirk-same Cholesterinmenge gleich dem Cholesteringehalt der ab-gemessenen Cholesterinlösung setzte, ist es klar, daß zuver-lässige Resultate nicht immer erzielt worden sind.

Ich habe deswegen für meine Untersuchungen die Cholesterinverbindungen und dergleichen Körper in wässerigen kolloidalen Suspensionen verwendet, weil es möglich ist, derartige Suspensionen in jedem Mengenverhältnis mit Wasser zu mischen. Die Darstellung kolloidaler Cholesterinsuspensionen ist von Porges und Neubauer (21) beschrieben worden. Die Autoren haben die nämlichen Cholesterinaufschwemmungen zwar nicht für hämolytische Versuche verwendet, sondern für eine Reihe interessanter physikalischer Untersuchungen über Fällungsverhältnisse mit Neutralsalzen, Säuren und anderen Körpern.

Die kolloidalen Cholesterinsuspensionen werden auf die Weise hergestellt, daß Cholesterin in Aceton gelöst wird und unter Umrühren allmählich in eine große Menge destilliertes Wasser ausgegossen; das Aceton wird im Wasserbade bei verhältnismäßig niedriger Temperatur abgedampft, Cholesterin-lösung wird wieder hinzugefügt, Aceton abgedampft usw. und zuletzt wird filtriert. Auf diese Weise ist es möglich, milch-artige, dichte und ziemlich haltbare Cholesterinsuspensionen darzustellen. Kolloidale Suspensionen wurden auch von den für die Versuche verwendeten Cholesterinderivaten hergestellt, die Herstellung war aber in einigen Fällen nicht ohne Schwierigkeit, und es war bei einzelnen der Verbindungen notwendig, das Wasser auf 40—50° vor dem Hinzufügen der Acetonlösung aufzuwärmen. Auch andere in Wasser un-lösliche Körper, wie Cetyl- und Myricylalkohol, wurden in der-gleichen Suspensionen verwendet.

Es stellte sich heraus, daß die Haltbarkeit dieser kolloi-dalen Suspensionen etwas ungleich für die verschiedenen Körper war, indem einige schon nach ein paar Tagen einen feinen Bodensatz absetzten, während andere 3 bis 4 Wochen, und in vereinzelt Fällen mehrere Monate hindurch sich un-verändert haltbar zeigten.

Das Cholesterin, welches zur Verwendung kam, wurde aus Gallenstein auf gewöhnliche Weise dargestellt und durch zahlreiche Umkristallisationen gereinigt. Schmelzpunkt = 146°C .

Außerdem wurden untenstehende Cholesterinderivate dargestellt:

- 1) Natriumcholesterylát $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{ONa}$
- 2) Cholesterylchlorid $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{Cl}$
- 3) Dibromcholesterin $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{OHBr}_2$
- 4) Cholesterylbenzoat $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{COOC}_6\text{H}_5$
- 5) Dibromcholesterylpropionat $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{Br}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$.

ad 1) In Natriumcholesterylát ist der Hydroxylwasserstoff gegen Natrium umgetauscht. Es wurde nach Obermüller (22) durch Zusatz von Natriumstückchen zu einer gesättigten Lösung von Cholesterin in Aether unter Abkühlung dargestellt. Der Reaktionsverlauf wird von einer heftigen Wasserstoffentwicklung begleitet. Es kristallisiert in seidenglänzenden Nadeln.

ad 2) In Cholesterylchlorid ist die ganze Hydroxylgruppe gegen Chlor umgetauscht. Es wurde nach Diels und Abderhalden (23) durch Zusatz ein Ueberschuß von Thionylchlorid zu Cholesterin dargestellt; dieses wird unter Schäumen gelöst, erstarrt aber bald, die Reaktion ist dann vorüber und die Verbindung wird aus Aether umkristallisiert.

ad 3) In Dibromcholesterin ist die Doppelbindung durch Addieren von zwei Bromatomen aufgehoben worden. Nach Windaus (24) durch Zusatz einer Lösung von 25 g Brom in 250 g Eisessig dargestellt; der kristallinische Bodensatz wird mit Essigsäure und Wasser gewaschen und umkristallisiert.

ad 4) In Cholesterylbenzoat ist die Hydroxylgruppe durch den Benzoessäurerest ersetzt worden. Nach Obermüller (25) durch Erhitzen von Cholesterin mit einem geringen Ueberschuß von Benzoylchlorid in einem Kölbchen bis ca. 160° (Oelbad) dargestellt. Die Verbindung wird in wenigen Minuten gebildet. Auflösen in Aether und Zusatz von so viel Alkohol, daß die Lösung sich nicht trübt; nach vorsichtiger Verdampfung wird die Verbindung als tafelförmige Kristalle erhalten.

ad 5) In Dibromcholesterylpropionat ist die Doppelbindung durch Addieren von zwei Bromatomen aufgehoben und gleichzeitig die Hydroxylgruppe gegen den Propionsäurerest umgetauscht worden. Nach Obermüller (26) dargestellt. Erstens wird Cholesterylpropionat durch Mischen von 10 g bei 100° getrockneten Cholesterins mit 5 g Propionsäureanhydrid in einem mit Rückflußkühler versehenen Kölbchen, welches darnach eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erhitzt worden ist, dargestellt. Nach Abkühlung scheidet sich aus der weißgelben Lösung eine weiße, fettglänzende Masse aus. Die Verbindung wird aus der ätherischen Lösung durch

Alkohol gefällt, und kristallisiert aus Aether-Alkohol in rhombischen Blättchen.

Hieraus wird die Bromverbindung folgendermaßen dargestellt: trockenes, völlig reines Cholesterylpropionat wird in einer geringen Menge trockenen und reinen Schwefelkohlenstoffs gelöst und unter Abkühlung durch kaltes Wasser eine Lösung von reinem (chlorfreiem) Brom in Schwefelkohlenstoff zugetan, bis die Flüssigkeit bleibend gelb gefärbt wird. Danach läßt man die gelbe Flüssigkeit bei Zimmertemperatur verdampfen, wobei eine harzige spröde Masse zurückbleibt, diese wird fein pulverisiert, in möglichst wenig Aether gelöst und durch Alkohol gefällt. Die Verbindung wird durch Umkristallisation aus Alkohol als weiße quadratische Blätter erhalten.

Die Stärke der kolloidalen Suspensionen wurde durch einfaches Abdampfen (bis 50—60°) und Trocknen bis zur Gewichtskonstanz bestimmt. Die verschiedenen Verbindungen wurden für die Versuche teils als 0,02-prozentige, teils als $\frac{1}{1000}$ -normale durch Verdünnung der Stammsuspensionen mit destilliertem Wasser hergestellt, verwendet. Es würde bei der Verwendung der Suspensionen für hämolytische Versuche natürlicher sein, die Herstellung dieser Verdünnungen mit physiologischer NaCl-Lösung statt destillierten Wassers zu bewerkstelligen, indessen ist dies unmöglich, weil Elektrolyten auch bei dieser geringen Konzentration (27) die kolloidal gelösten Körper fällen. In Mischungen von diesen Suspensionen mit den oben erwähnten hämolytischen Lösungen, welche immer mit 0,9-proz. NaCl zubereitet waren, stellten derartige Fällungen sich nie ein, was z. B. durch die Anwesenheit von anderen Kolloiden, die somit hier als „Schutzkolloide“ wirkten, erklärt werden kann.

Die Wirkung des Cholesterins ist, wie oben erwähnt, sicher von der Größe der Cholesterinpartikelchen in den Mischungen, d. h. von der Oberflächengröße abhängig; und es läßt sich durch einen einfachen Versuch zeigen, daß die toxinbindende Fähigkeit des Cholesterins mit zunehmender Feinkörnigkeit zunimmt.

Die untenstehenden drei Mischungen wurden hergestellt:

- I. 50 ccm 1-proz. Saponin + 0,25 g pulverisiertes Cholesterin + 50 ccm 0,9-proz. NaCl
- II. 50 ccm 1-proz. Saponin + 0,25 g Cholesterin in 5 g Alkohol gelöst + 45 ccm 0,9-proz. NaCl
- III. 50 ccm 1-proz. Saponin + 50 ccm kolloidale Cholesterinsuspension (enthaltend 0,25 g Chol.).

Die Mischungen standen bei 37° C. Nach 10 Minuten, 2 Stunden und 24 Stunden wurden Proben entnommen, sofort filtriert, die Filtrate auf Eis bis nächsten Tag aufgehoben und dann die hämolytische Messung vorgenommen.

Tabelle I.

$\frac{1}{2}$ -proz. Saponinlösung	Mischung I			Mischung II			Mischung III		
	10'	2 ^h	24 ^h	10'	2 ^h	24 ^h	10'	2 ^h	24 ^h
0,05	—	—	—	0,5	—	—	2,0	⊗	⊗
0,04 ○	○	○	○	0,4	—	—	1,7	⊗	⊗
					>○	>○		—	—
0,03	—	—	—	0,3 ○	—	—	1,3	—	—
0,025	—	—	—	0,25	—	—	1,0	—	—
0,02 ×	×	×	×	0,2	—	—	0,8	—	—
0,017	—	—	—	0,17 ×	×	×	0,65	—	—

○ = ca. 20 Proz. Hämolyse. × = keine Hämolyse.

Es geht aus diesem Versuch hervor, daß in Mischung I, wo das Cholesterin ziemlich grobkörnig war, kein Saponin gebunden worden ist, indem der hämolytische Wert des Filtrates mit dem der $\frac{1}{2}$ -prozentigen als Kontrolle untersuchten Saponinlösung gleichkommt. In Mischung II, wo das Cholesterin zum Teil in sehr feinkörnigem Zustande gefällt wird, ist die Wirkung hingegen bedeutend stärker, indem 0,35 ccm von diesem Filtrate genommen werden muß, um dieselbe Intensität der Hämolyse wie mit 0,04 ccm der Kontrolllösung zu erzielen. In Mischung III, wo die ganze Cholesterinmenge in sehr feinkörniger Suspension sich findet, ist die gebundene Saponinmenge noch bedeutend größer; von diesem Filtrate muß mehr als 2 ccm verwendet werden, um die besprochene Wirkung zu erreichen.

Wie erwähnt, sind derartige Untersuchungen von Hausmann (28) nebst Abderhalden und Le Count (28) publiziert worden, und diese haben gemeint, feststellen zu können, daß die Antiwirkung des Cholesterins an die freie Hydroxylgruppe geknüpft sei, und daß die Aufhebung der Doppelbindung des Moleküls die antitoxische Wirkung herabsetzt, jedoch ohne diese völlig aufzuheben. Das Cholesterin und seine Derivate sind von den genannten Forschern bzw. in Aether und Methylalkohol verwendet worden, und zwar für den Vergleich ihrer Wirkungen in prozentischen Lösungen. Falls die Wirkung der Kolloide als proportional mit der Oberflächengröße angesehen wird, muß man die Wirkung dieser Körper in prozentischen Lösungen vergleichen; da es sich aber nicht um eine einfache Oberflächenwirkung handelt, weil

die Wirkung zugleich an gewisse Atomgruppen des Moleküls geknüpft ist, könnte es hier von Interesse sein, die Wirkung dieser Körper auch vom chemischen Standpunkte aus zu untersuchen, und zwar in äquimolekularen Lösungen. Die Resultate der Untersuchungen, welche ich zu diesem Zweck unternommen habe, finden sich in der Tabelle II.

Die für die Versuche verwendeten kolloidalen Suspensionen wurden am 31. VIII. 1909 hergestellt und bis $\frac{1}{2000}$ -normal verdünnt. Die angeführten Ziffern bezeichnen die Menge der betreffenden Suspension, welche eben nötig ist, um eine Hämolysineinheit völlig zu binden. Eine Hämolysineinheit ist die geringste Lysinmenge, welche imstande ist, 8 cm³ einer 1-prozentigen Suspension von Pferdeerythrocyten völlig zu lösen; diese Erythrocytenmenge wurde in jedes Reagensgläschen gegossen.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Verbindungen, in welchen die freie Hydroxylgruppe verschwunden ist, mehr oder weniger vollständig die lysinbindende Fähigkeit eingebüßt haben. Es scheint jedoch, als ob andere Gesetze für das Vibriolysin geltend seien, indem hier z. B. das Dibromcholesterinpropionat sogar stärker und das Cholesterinbenzoat ebenso stark wie das Cholesterin wirken. Ähnliche Verhältnisse scheinen sich betreffend Cholesterinnatrium geltend zu machen.

Tabelle II.

Versuchsdaten	Saponin						Solanin				Tetanolysin				Cobralysin				Vibriolysin			
	1. IX.	2. XI.	4. IX.	15. X.	21. X.	22. X.	1. IX.	19. X.	21. X.	22. X.	3. IX.	15. X.	24. X.	2. IX.	18. X.	20. X.	3. IX.	16. X.	21. X.	24. X.		
Cholesterin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,25	0,25	0,25	0,3	0,3	0,3	0,0003	0,0007	0,001	0,2	0,2	0,2	0,65	0,7	0,7	0,75		
Dibromcholesterin	0,2	0,3	0,3	0,35	0,5	0,7	0,3	0,5	0,6	0,8	0,0005	0,003	0,005	0,25	0,35	0,3	>1,0	0,2	0,5	0,75		
Cholesterinnatrium	0,25	0,3	0,3	0,2	0,25	0,25	0,25	0,4	0,3	0,3	0,0005	0,0007	0,001	0,2	0,2	0,2	0,17	0,25	0,3	0,5		
Cholesterinchlorid	>1,0	>1,0	>1,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>0,5	0,3	0,45	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0		
Cholesterinbenzoat	>1,0	>1,0	>1,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>0,5	0,3	0,45	>2,0	>2,0	>2,0	0,65	0,7	0,8	1,3		
Dibromcholesterin- propionat	>1,0	>1,0	>1,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>0,5	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	>2,0	0,17	0,25	0,6	0,9		

Wenn die hier erwähnten Körper in äquimolekularen Suspensionen verglichen werden, stellt es sich somit heraus, daß die Aufhebung der Doppelbindung im Cholesterinmolekül die lysinbindende Fähigkeit nicht herabgesetzt hat.

Um durch einen einzelnen Versuch zu demonstrieren, welche Bedeutung es haben kann, ob man prozentische oder äquimolekulare Lösungen vergleicht, wurde der untenstehende Versuch ausgeführt.

Tabelle III.

In jedem Reagenzglas 0,3 ccm 1-prom. Saponin + die angeführten Cholesterin-
Dibromcholesterin- } Mengen + Zusatz von 0,9-proz. NaCl-Lösung bis 2 ccm
Inhalt pro Glas (2 Stunden bei 37°) + 8 ccm 1-proz. Blutkörperchenaufschwemmung.

$\frac{1}{3000}$ -normal		0,02 Proz.	
Cholesterin	Dibromcholesterin	Cholesterin	Dibromcholesterin
0,5	—	1,0	—
0,4	—	0,7	—
0,3	—	0,5	— > ○
0,25	—	0,4	—
0,2 ○	— > ○	0,3	—
0,17	—	0,25	—
0,13	—	0,2 ○	—
0,1	—	0,17	—

○ = ca. 30 Proz. Hämolyse.

Wenn man die Versuche, welche mit demselben Cholesterinderivat von Zeit zu Zeit ausgeführt worden sind, näher untersucht (Tabelle II), wird man beobachten, daß allmählich immer mehr von der nämlichen Cholesterinverbindung nötig ist, um Neutralisation zu erzielen; dies scheint ein konstantes Verhältnis in sämtlichen Versuchen zu sein und läßt sich durch die Tatsache erklären, daß die kolloidalen Suspensionen, wie oben erwähnt, ziemlich schnell grobkörniger werden, wodurch infolge dem früher Hervorgehobenen auch die toxinbindende Fähigkeit vermindert wird, außerdem ist es aus der Tabelle ersichtlich, daß nicht alle Suspensionen mit gleicher Schnelligkeit ausfallen, daß aber eben die Dibromcholesterin-

suspension am wenigsten haltbar ist; von sämtlichen Derivaten war diese Verbindung es auch, welche sich am schwierigsten in kolloidale Lösung bringen ließ. Diesen Ergebnissen zufolge ist es somit nicht unbedeutend, zu welchem Zeitpunkt nach der Herstellung der Suspension der Vergleich unternommen wird und die größten Wirkungen werden unzweifelhaft mit frisch zubereiteten Suspensionen erreicht.

Tetanospasmin. Im Anschluß an diese Versuche habe ich die neutralisierende Wirkung der verschiedenen Cholesterinderivate auf das Tetanospasmin untersucht.

Die Mischungen von Tetanospasmin mit Cholesterinsuspension standen 1 Stunde bei 37° vor der Injektion, welche subkutan an Mäusen vorgenommen wurde, und die Untersuchungen ergaben das folgende Resultat.

Tabelle IV.

Tetanospasmin + Cholesterin (Maus).

0,0022 (= 1,5 Letaldosis) Toxin + 1 ccm $\frac{1}{2000}$ -n. Suspension ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° vor der Injektion).

	Versuch I	Versuch II
Toxin allein	+ $3\frac{1}{2}$ Tage	+ $3\frac{1}{2}$ Tage
dgl.	+ $2\frac{1}{2}$ "	+ $4\frac{1}{2}$ "
Cholesterin	+ $4\frac{1}{2}$ "	+ $5\frac{1}{2}$ "
Dibromcholesterin	kein Tetanus	kein Tetanus
Cholesterinnatrium	+ $3\frac{1}{2}$ Tage	+ $3\frac{1}{2}$ Tage
Cholesterinchlorid	+ $2\frac{1}{2}$ "	+ 5 "
Cholesterinbenzoat	+ 8 "	schwacher Tetanus, lebt
Dibromcholesterinpropionat	+ 7 "	+ $5\frac{1}{2}$ Tage

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß, während das Cholesterin nicht imstande ist, das Tetanospasmin zu binden, dieses vom Dibromcholesterin völlig unschädlich gemacht wird. Man wird geneigt sein, zu vermuten, daß die Wirkung durch das in dem Molekül anwesende Brom verursacht werde; dies ist jedoch unwahrscheinlich, weil Dibromcholesterinpropionat jedenfalls keine hervortretende Wirkung ausübt.

Die Wassermannsche Reaktion.

Es ist das syphilitische Serum, welches bekanntlich in der Wassermannschen Reaktion mit dem „Antigen“ zusammen das Komplement zu

binden vermag und dadurch die Hämolyse, welche bei der Verwendung von normalem Serum sich einstellen würde, verhindert. Außer dem als „Antigen“ gewöhnlich zur Verwendung kommenden Herzextrakt können auch andere Körper verwendet werden, obwohl diese bedeutend schwächer wirken. Das Cholesterin ist von Fleischmann in Vorschlag gebracht worden und es würde deswegen hier von Interesse sein, die verschiedenen Cholesterinderivate auf ihre Wirkung als „Antigene“ zu untersuchen. Die Verbindungen kamen wie bei den obenerwähnten Versuchen in $1/2000$ -norm. Suspensionen zur Verwendung.

Tabelle V.

Cholesterin als „Antigen“ in der Wassermannschen Reaktion.

Die verschiedenen Suspensionen in $1/2000$ -n. Verdünnung verwendet.

Herz-extrakt	Chole-sterin	Dibrom-cholesterin	Cholesterin-natrium	Chole-sterin-chlorid	Cholesterin-benzoat	Dibrom-cholesterin-propionat
0,1 } 0	— } 0	— } 0	— } 0	— } 100	— } 100	— } 100
0,05 } 0	— } 15	— } 20	— } 12	— } 100	— } 100	— } 100
0,03 } 0	— } 80	— } 70	— } 60	— } 100	— } 100	— } 100
0,02 } 90	— } 100	— } 100	— } 100	— } 100	— } 100	— } 100
0,01 } 90	— } 100	— } 100	— } 100	— } 100	— } 100	— } 100

Die beigegeführten Zahlen bezeichnen Hämolyseprozent.

Aus diesem Versuche ergibt sich, daß die Wirkung des Cholesterins von der Anwesenheit der freien Hydroxylgruppe abhängig ist, die Doppelbindung dagegen bedeutungslos scheint, also völlig dasselbe Verhalten, wie für die früher besprochenen hämolytischen Körper gefunden ist. Kontrollversuche mit Cholesterin ohne Serum zeigten, daß dies allein nicht die Hämolyse aufzuheben vermag, jedenfalls nicht bei der hier verwendeten Konzentration.

Phagocytose. Diese Versuche sind unternommen worden, um zu untersuchen, ob dem Cholesterin irgendein Einfluß auf die Phagocytose beizumessen wäre, und mit der üblichen Methodik ausgeführt¹⁾, nur mit dem Unterschied, daß Serum durch eine kolloidale Cholesterinsuspension ersetzt wurde.

1) Bei den Präparationen und Zählungen der Phagocytoseversuche hat Dr. Wulff mir eine sehr wertvolle Hilfe geleistet.

Tabelle VI.
Der Einfluß des Cholesterins auf die Phagocytose (Coli).

	Die absolute Phagocytosezahl
Normales Menschenserum	3,2
Cholesterin	10,3
Dibromcholesterin	6,5
Cholesterinnatrium	8,9
Cholesterinchlorid	8,6
Cholesterinbenzoat	10,0
Dibromcholesterinpropionat	10,7
Cetylalkohol	3,3
Myricylalkohol	3,5

Es zeigt sich durch diese Untersuchungen, daß Cholesterin die Eigenschaft besitzt, in hohem Grade fördernd auf die Phagocytose zu wirken. Die angeführten Ziffern bezeichnen die absoluten Phagocytosezahlen und sind Mittelzahlen aus zwei Versuchen. Aus der Tabelle geht hervor, daß das Cholesterin bei der hier verwendeten Konzentration ($1/2000$ -norm.) die phagocytäre Fähigkeit um ca. dreimal vermehrt. Die Anzahl der Versuche ist indessen gar zu klein, um aus den angeführten Zahlen mit Sicherheit etwas Definitives zu folgern, es hat aber den Anschein, als ob die Wirkung nicht von der freien Hydroxylgruppe des Cholesterins abhängig ist. Uebrigens scheint es eine spezifische Cholesterinwirkung und kein gewöhnliches Kolloidphänomen zu sein, weil z. B. kolloidale Suspensionen der aliphatischen Alkohole Cetyl- und Myricylalkohol in dieser Beziehung ganz wirkungslos sind.

Da Cholesterin, wie oben angedeutet, überall verbreitet im tierischen Zellengewebe und in den Körperflüssigkeiten (Serum) vorkommt, läßt es sich denken, daß es eine wichtige Rolle bei den phagocytären Prozessen spielt; jedenfalls muß die phagocytosefördernde Fähigkeit dieses Körpers, eben der Verbreitung wegen, näher untersucht werden.

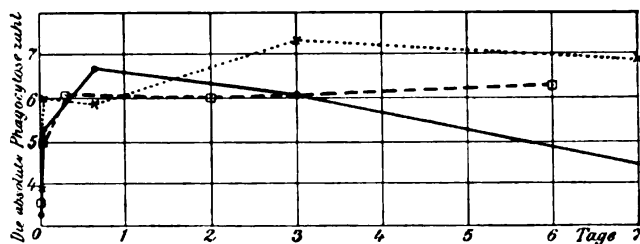
Da es von großem Interesse wäre, zu untersuchen, ob die nämliche phagocytose-fördernde Fähigkeit des Cholesterins auf das Serum lebender Tiere überführt werden könnte, habe ich einige Versuche mit intravenöser Injektion kolloidaler Cholesterinsuspensionen an Kaninchen angestellt.

Drei Kaninchen wurden injiziert.

No. I	bekam	2 ccm	$\frac{1}{2000}$ -n.	Cholesterin	=	0,0004 g	Cholesterin
" II	"	8 "	"	"	=	0,0016 "	"
" III	"	20 "	"	"	=	0,004 "	"

Eine Blutprobe wurde vor der Injektion und mehrere zu verschiedenen Zeitpunkten nach derselben entnommen, und das Serum dieser Blutproben auf die phagocytäre Stärke untersucht; die Resultate sind in Kurve I graphisch dargestellt.

Kurve I. Die phagocytosebefördernde Wirkung des Cholesterins auf das Serum lebender Tiere.

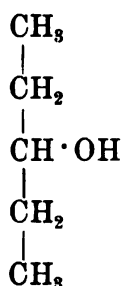


- = 2 ccm $\frac{1}{2000}$ -n. Cholesterin = 0,000386 g Cholesterin
- x = 8 ccm $\frac{1}{2000}$ -n. Cholesterin = 0,00154 g Cholesterin
- = 20 ccm $\frac{1}{2000}$ -n. Cholesterin = 0,00386 g Cholesterin

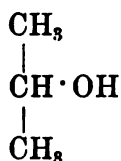
Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß man durch Injektion von diesen minimalen Cholesterinmengen imstande ist, die phagocytäre Fähigkeit zu verdoppeln, d. h. ungefähr dasselbe zu erzielen was durch lange andauernde Immunisierungen erzielt werden kann. Da die Cholesterinwirkung sich indessen sofort einstellt, wäre es vielleicht von Interesse, diese Methode in derselben Weise als Vaccinebehandlung für therapeutische Zwecke zu probieren; übrigens scheint es, den Versuchen zufolge, als ob keine größere Wirkung durch Erhöhung der Cholesterinmenge erreicht werde; die erzielte Wirkung scheint sich dagegen lange unverändert zu erhalten.

Wie man sich auch die Reaktion zwischen Cholesterin und Hämolyisin vorstellen will, ob man es als rein chemischen Prozeß oder als Adsorptionsvorgang betrachtet, steht es jedenfalls fest, daß die chemische Zusammensetzung des Cholesterinmoleküls von wesentlicher und zum Teil entscheidender Bedeutung für die Wirkungsweise ist, und wenn man näher untersuchen will, worauf die Wirkung des Cholesterins eigentlich beruht, liegt es auf der Hand: ähnliche Verbindungen

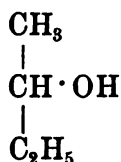
innerhalb der chemisch gekannten Körper aufzusuchen, um demnächst zu untersuchen, ob sie Hämolyse und Toxine zu binden vermögen. Eine Verbindung, welche die meisten Eigentümlichkeiten des Cholesterinmoleküls besitzt, wird kaum zu finden sein, es lassen sich dagegen solche ermitteln, die einzelne der Atomgruppierungen des Cholesterinmoleküls enthalten. Für das Cholesterin kann es als charakteristisch bezeichnet werden, daß die Hydroxylgruppe zwischen zwei Methylengruppen liegt, und ein gleiches Verhältnis kennt man unter anderem auch im sekundären Amylalkohol



Im Cholesterin findet sich eine Isopropylgruppe $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$, und eine solche hat man auch im sekundären Propylalkohol



Das Cholesterin besitzt außerdem ein asymmetrisches Kohlenstoffatom (Cholesterin ist linksdrehend), und ein solches, auf ähnliche Weise wie im Cholesterin gestelltes, trifft man im sekundären Butylalkohol



Durch die Untersuchung dieser drei Verbindungen stellte es sich heraus, daß deren kein einziges die Hämolyse zu binden vermochte.

Es ließ sich auch denken, daß der Kern des Cholesterins in dieser Beziehung eine Rolle spiele; wie oben erwähnt, ist

dieser ein ziemlich kompliziertes Terpen, und ich habe deswegen einige wenige Terpene untersucht, und zwar

Pinen $C_{10}H_{16}$

Terpinen $C_{10}H_{18}(OH)_2$

Terpinhydrat $C_{10}H_{20}O_2 + H_2O$

aber gefunden, daß diese ganz wirkungslos waren.

Da die Doppelbindung des Cholesterinmoleküls den oben besprochenen Versuchen zufolge nur eine relativ unbedeutende Rolle in bezug auf toxinbindende Fähigkeit spielt, bleibt nur die Hydroxylgruppe übrig und nach den ausgeführten Untersuchungen zu urteilen, ist die Wirkung wahrscheinlich auf irgendeine Art an diese geknüpft. Indessen kommen Hydroxylgruppen in der organischen Chemie so verbreitet vor, daß es natürlicherweise nur möglich wird, einige wenige dieser Verbindungen durchzuprobieren. Selbstverständlich denkt man zuerst an Alkohole und ich werde hier einige Versuche mit einzelnen aliphatischen und aromatischen Alkoholen mitteilen.

II. Versuche mit aliphatischen und aromatischen Alkoholen u. dgl.

Die für diese Versuche verwendete Technik ist ganz dieselbe wie die oben beschriebene. Die in Wasser unlöslichen Körper kamen in kolloidalen Suspensionen zur Verwendung und diese sind in derselben Weise wie die Cholesterinsuspensionen hergestellt worden. Aus den aliphatischen Alkoholen habe ich für die Untersuchungen die monovalenten primären Alkohole mit der Formel $C_nH_{2n+1}OH$ gewählt, und zwar die mit 1, 2, 3, 4, 7, 16 und 30 Kohlenstoffatomen im Molekül.

Hämolysine. Die Resultate dieser Bindungsversuche mit Hämolysinen und den erwähnten Alkoholen sind in Tabelle VII aufgeführt worden.

Tabelle VII.

		Proz. C	Proz. (OH)	Vibriolysin	Tetanolysin	Staphylo- lysin
C_1	Methyl	37,5	53,1	0,5	0,7	0,7
C_2	Aethyl	52,2	36,9	0,4	0,5	0,5
C_3	Propyl	60	28,3	0,17	0,2	0,17
C_4	Butyl	64,8	21,9	0,1	0,1	0,1
C_7	Heptyl	72,4	14,7	0,01	0,01	0,017
C_{16}	Cetyl	79,3	7,0	0,000242	0,000182	0,000647
C_{30}	Myricyl	82,2	3,9	0,000044	0,000101	0,000044
C_{27}	Cholesterin	83,9	4,4	0,000077	0,00000386	0,000289

Die angeführten Ziffern bezeichnen die geringste Menge des nämlichen Alkohols, welche imstande ist, die Wirkung einer so großen Hämolysindosis = 1 Hämolysineinheit aufzuheben, die sonst totale Hämolyse erzeugen würde.

Aus der Tabelle geht hervor, daß diese aliphatischen Alkohole und besonders die höheren Glieder derselben stark hämolysinbindende Körper sind, welche in dieser Beziehung dem Cholesterin nicht nachstehen. Aus den Versuchen geht außerdem hervor, daß die Wirkung mit steigendem Kohlenstoffinhalt und abnehmendem prozentischen Hydroxylinhalt bedeutend zunimmt. Es ist überdies ersichtlich, daß das Cholesterin mit seinen 27 Kohlenstoffatomen in bezug auf antihämolytische Wirkung sehr gut in diese Reihe paßt.

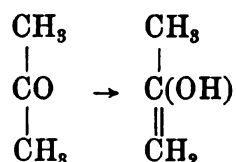
Es würde hier von großem Interesse sein, den aliphatischen Alkohol mit 27 Kohlenstoffatomen (Cerylalkohol), d. h. mit derselben Anzahl Kohlenstoffatomen wie Cholesterin, zu untersuchen, und besonders den sekundären Cerylalkohol, welcher außerdem mit dem Cholesterin das gemeinschaftlich hat, daß die Hydroxylgruppe zwischen zwei Methylengruppen liegt. Es gelang mir leider nicht, diese Verbindungen zur Untersuchung zu erhalten.

Unter anderen Verbindungen habe ich die auf Tabelle VIII angeführten Körper in dieser Beziehung untersucht. Aceton und Aether sind zwar nicht Alkohole, da sie aber in der hämolytischen Technik ziemlich oft als Lösungsmittel verwendet werden, können sie hier ein besonderes Interesse beanspruchen.

Tabelle VIII.

	Proz. C	Proz. (OH)	Vibrio- lysin	Tetano- lysin	Staphylo- lysin
C ₃ Aceton	62,1	(29,3)	0,3	0,4	0,2
C ₄ Aether	64,9	—	0	0,04	0
C ₆ Phenol	76,6	18,1	0,0159	0,0188	0,00376
C ₆ Resorcin	65,5	30,9	0,033	0,044	0,011
C ₁₀ Phloroglucin	55,4	40,5	0,126	0,126	0,0252
C ₁₂ Benzylalkohol	77,7	15,7	0	0	0
C ₂₇ Glykokolsaures Natrium	—	—	0,0002	0,000014	0,0012
C ₂₇ Taurocholsaures Natrium	—	—	0,0002	0,00003	0,0012

Es zeigt sich, daß Aether nur eine Wirkung auf das Tetanolysin ausübt, wogegen Aceton relativ wirksam ist, und ich werde deswegen die Bemerkung einschalten, daß Aceton bekanntlich als eine Art von Alkohol in der Weise auftreten kann, daß die Ketonformel in eine Enolformel übergeht



Benzylalkohol ist völlig unwirksam. Phenol, Resorcin und Phloroglucin, welche bekanntlich bezw. Mono-, Di- und Trioxybenzole sind, sind alle wirksam und es ist ersichtlich, daß die Verhältnisse ganz denen der aliphatischen Alkohole entsprechen, indem die Wirkung mit steigendem Kohlenstoffinhalt und abnehmendem prozentischen Hydroxylinhalt zunimmt.

Die antihämolytische Wirkung des glykokollsauren und taurocholsauren Natriums ist früher beobachtet worden, beide haben 26 Kohlenstoffatome im Molekül, sind aber in dieser Beziehung von geringem Interesse.

Als eben die in antihämolytischer Beziehung außerordentliche Bedeutung der Hydroxylgruppe im Cholesterinmolekül mich ursprünglich dazu führte, die nämlichen Alkohole zu untersuchen, lag es auf der Hand, auch bei diesen Körpern zu eruieren, ob ihre Wirkung an die Anwesenheit des Hydroxyls geknüpft sei. Ich stellte deswegen die Chloride des Cetyl- und Myricylalkohols dar; es zeigte sich aber bei deren Untersuchung, daß sie durchaus nicht die ursprüngliche hämolysinbindende Fähigkeit eingebüßt hatten, und es scheint somit, daß man hier der Hydroxylgruppe nicht dieselbe Bedeutung wie beim Cholesterin beimessen kann.

Toxine. Als es gelang, unter den höheren Gliedern der primären einwertigen aliphatischen Alkohole Körper mit einem ausgesprochenen Bindungsvermögen gegenüber verschiedenen hämolytischen Giften zu finden, war es auch von Interesse, die nämlichen Körper gegenüber den wichtigsten Bakterien-

toxinen, und zwar dem Diphtherietoxin, Tetanustoxin nebst anderen Giften zu untersuchen.

Diphtherietoxin.

0,005 ccm (d. h. eine Letaldosis) wurde bez. mit 5 ccm kolloidalem Cetyl-, Myricyl-, Coccerylalkohol oder mit dem Paraffin Tetratriakontan $C_{84}H_{70}$ vermischt, und an Meerschweinchen nach halbstündigem Stehenlassen bei $37^{\circ} C$ subkutan injiziert. In sämtlichen Versuchen starben die Tiere zu derselben Zeit wie das Kontrolltier. Das Diphtherietoxin wird somit nicht von diesen Kolloiden gebunden.

Tetanospasmin.

0,005 ccm einer Toxinlösung (d. h. 2 Letaldosen) wurden mit verschiedenen Mengen der angeführten Körper vermischt und an Mäuse nach halbstündigem Stehenlassen bei $37^{\circ} C$ subkutan injiziert.

Es stellte sich bei diesen Versuchen heraus, daß diese Kolloide mehr oder weniger imstande sind, das Tetanospasmin zu binden. Die Versuche haben das untenstehende Resultat ergeben. Es wird völlig gebunden:

0,005 ccm Toxin von 0,00002 ccm Antitoxin Höchst (= $\frac{1}{10000}$ I.E.)	
0,005 „ „ „ 2,0 ccm $\frac{1}{1000}$ -n. Cetylalkohol	= 0,00048 g Cetylalk.
0,005 „ „ „ 0,4 „ $\frac{1}{5000}$ -n. Myricylalkohol	= 0,00017 „ Myricylalk.
0,005 „ „ „ 0,2 „ $\frac{1}{5000}$ -n. Coccerylalkohol	= 0,00009 „ Coccerylalk.
0,005 „ „ „ 1,0 „ $0,5\frac{0}{100}$ Paraffin. solid.	= 0,0005 „ Paraff. solid.
0,005 „ „ „ 0,2 „ $\frac{1}{1000}$ -n. $C_{84}H_{70}$	= 0,00009 „ $C_{84}H_{70}$

Es stellte sich somit heraus, daß einer Tetanusantitoxineinheit die folgenden Mengen entsprechen:

- 4,8 g Cetylalkohol,
- 1,7 g Myricylalkohol,
- 0,9 g Coccerylalkohol,
- 5,0 g Paraffin. solid.,
- 0,9 g $C_{84}H_{70}$

und daß die Wirkung dieser kolloidalen Körper im Vergleich mit der des spezifischen Immunserums nicht besonders groß ist.

Den Coccerylalkohol $C_{30}H_{62}O_2$ habe ich zum Vergleich mit benutzt, weil Staudenski (29) (1901) mitgeteilt hat, daß Tetanusgift durch pulverisierte Coccionellae gebunden wird; Metschnikoff (30) ist der Meinung, daß diese Wirkung durch den großen Lipoidgehalt der Tierchen verursacht wird. Bekanntlich enthalten die Coccionellae bedeutende Wachs-

mengen (Coccerin). Um zu untersuchen, ob die toxinbindende Fähigkeit an diesen Körper geknüpft sei, wurden ganze Coccionellae mittels kochendes Benzin extrahiert; nach Verdampfung des Benzins blieb das Rohcoccerin zurück; wurde dann Tetanustoxin mit einer geringen Menge von diesem in Wasser aufgeschwemmten Coccerin vermischt, so stellte es sich heraus, daß die Mischung ihre Giftigkeit verloren hatte; eine relativ große Coccerinmenge war jedoch notwendig, um einige letale Dosen zu binden. Dem bereits Gesagten zufolge ließe sich vermuten, daß die Wachsalkohole ein bedeutend größeres Bindungsvermögen dem Toxin gegenüber hatten, und ich stellte deswegen nach einer von Liebermann (31) angegebenen Methode den reinen Coccerylalkohol dar. Wie aus obestehender Zusammenstellung hervorgeht, stellte es sich, wie wir erwartet, heraus, daß der Alkohol in bezug auf diese Eigenschaft nicht den höheren Gliedern der aliphatischen Alkohole nachsteht, sondern im Gegenteil etwas wirksamer ist.

Bindungsversuche mit den oben erwähnten Kolloiden und Cobragift nebst Arachnotoxin haben ein negatives Resultat ergeben.

Von welcher Art die Prozesse sind, welche sich zwischen Hämolysinotoxin und Cholesterin nebst anderen höheren aliphatischen Alkoholen ereignen, ist noch nicht der Gegenstand ausführlicher Auseinandersetzungen gewesen. Indessen darf man wohl annehmen, daß es entweder chemische, auf chemischen Umsetzungen basierende Prozesse oder durch verschiedene physikalische Verhältnisse bedingte Adsorptionsprozesse sind. Es spricht indessen wenig dafür, daß man es hier mit echten chemischen Prozessen zu tun hat. Falls man davon ausgeht, es sei die Hydroxylgruppe, welche im Cholesterin die wirksame Gruppe repräsentiere, so müßte man annehmen, daß diese, sofern sie irgendeine chemische Einwirkung auf die Toxine hätte, am ehesten ein Analogon der Alkoholwirkung auf Säure sei, d. h. Bildung eines Esters. Dies ist aber recht unwahrscheinlich, weil die Bildung der Cholesterinestern bekanntlich ganz besondere Bedingungen verlangt, Bedingungen, welche gar nicht in den hier besprochenen Mischungen vorhanden sind. Außerdem würde es

ein Prozeß zwischen einem gelösten (Toxin) und einem ungelösten Körper (Cholesterin) sein, und unter solchen Verhältnissen läßt sich eine Esterifizierung schwerlich bewerkstelligen. Wenn man die Wirkung der primären Alkohole auf die Lysine beobachtet, zeigt es sich, daß diese außerordentlich stark mit steigendem Kohlenstoffinhalt zunimmt; falls es sich hier um einen echten chemischen Prozeß handelte, würde die Wirkung sicher gegen die höheren Glieder abnehmen, weil die Reaktionsfähigkeit der Verbindungen mit dem geringeren Kohlenstoffinhalt in der Regel am größten ist. Es läßt sich natürlicherweise nicht mit Bestimmtheit behaupten, daß wir es hier nicht mit einem chemischen Prozesse im allgemeinen Sinne zu tun haben, nichts spricht aber jedenfalls dafür, daß dies sich so verhalte.

Die Annahme, es sei ein Ab- oder Adsorptionsprozeß, ist dagegen wahrscheinlicher; darauf deutet unter anderem der Umstand, daß die Verbindung zwischen Toxin und Cholesterin von sehr lockerem Charakter zu sein scheint, ich brauche nur an die Untersuchungen von Madsen und Noguchi (32) über Saponin-Cholesterin zu erinnern. Die Verbindung, welche die genannten Forscher darstellten, ließ sich einfach durch Extraktion des Cholesterins mittels Chloroform oder Aether spalten, wodurch das fortwährend wirksame Saponin zurückblieb. Aus den Cholesterinestern kann man dagegen nicht das Cholesterin extrahieren. Es ist von der Verteilung des Cholesterins in der Flüssigkeit abhängig, wie viel Lysin es zu binden vermag und die Wirkung nimmt mit steigender Zerteilung zu, was auch auf Adsorption deutet. In bezug auf die primären Alkohole wird man auch sehen, daß die Wirkung erst dann bedeutend wird, wenn der betreffende Alkohol wenig löslich oder unlöslich in Wasser ist. Butylalkohol läßt sich verhältnismäßig leicht in Wasser lösen, ist aber auch wenig wirksam, wogegen der schwerlösliche Heptylalkohol schon sehr wirksam ist; und die Wirkung der höheren unlöslichen Alkohole ist ja, wie dargetan, außerordentlich groß.

Es scheint mir, daß diese mit zunehmender Unauflösbarkeit steigende Wirkung auch für die Annahme spricht, es sei ein Adsorptionsprozeß, und jedenfalls nicht dafür, daß es ein chemischer Prozeß im allgemeinen Sinne des Wortes sei.

Da man von Cholesterinbenzoat oder Cholesterinchlorid ebenso leicht wie vom Cholesterin kolloidale Suspensionen herstellen kann, welche durch das Aussehen nicht zu unterscheiden, wohl aber in ihrem Verhalten den Hämolytinen gegenüber verschieden sind, ist es nicht zu leugnen, daß die chemische Konstitution von entscheidender Bedeutung ist, und man darf wohl vorläufig annehmen, es seien die hier besprochenen Prozesse größtenteils von verschiedenen physikalischen Verhältnissen, welche sich bei Ab- oder Adsorptionsprozessen geltend machen, abhängig, sich aber gleichzeitig erinnern, daß das Bindungsvermögen jedenfalls größtenteils von der An- oder Abwesenheit gewisser Atomgruppen im Molekül bedingt ist.

Therapeutische Versuche. Weil die tetanospasminbindende Fähigkeit dieser Kolloide, mit der des spezifischen Antitoxins verglichen, als eine ziemlich geringe zu bezeichnen ist, war es von vornherein nicht zu erwarten, daß diese Körper heilend auf tetanusvergiftete Tiere wirken könnten. Da man es aber hier mit toxinbindenden Substanzen von sehr einfacher chemischer Konstitution zu tun hat, schien es mir dennoch von Interesse, solche Versuche zu unternehmen.

Alle Versuche sind mit Kaninchen vorgenommen worden. Das Gift wurde subkutan am Bauch injiziert.

Die Versuche wurden mit Cetylalkohol, Myricylalkohol und Coccerylalkohol nebst dem Paraffin Tetratriakontan $C_{84}H_{70}$ ausgeführt. Diese Körper sind in wässriger kolloidaler Suspension zur Verwendung gekommen und dann intravenös einverleibt worden. Als die kolloidalen Suspensionen mit destilliertem Wasser hergestellt waren, war es notwendig, vor der Injektion so viel von einer konzentrierten Chlornatriumlösung zuzusetzen, daß die Konzentration dieses Körpers in der ganzen Mischung eine 0,9-prozentige wurde. Bekanntlich wirken die Elektrolyten oft fällend auf kolloidale Suspensionen ein, und auch auf die hier verwendeten, es wurde aber beobachtet, daß die Fällung bei dieser Salzkonzentration erst nach langem Stehenlassen sich einstellte und der Chlornatriumzusatz wurde immer ca. $\frac{1}{2}$ Minute vor der Injektion vorgenommen. Als es auf diese Weise unmöglich war, relativ große Mengen der betreffenden Körper zu injizieren, wurde eine zweite Versuchsreihe ausgeführt, wo die erwähnten Körper in Öl gelöst waren, und diese Lösungen wurden dann intramuskulär in die Schenkelmuskulatur injiziert. Gewiß wird das Toxin nur durch diese Körper gebunden, wenn sie suspendiert sind. Es war aber nicht unwahrscheinlich, daß sie während der Resorption in einen solchen feinkörnigen Zustand übergehen.

Tabelle IX.

Da- tum	21. I. 1910	Tetanospasmin + Cetylalkohol Einzelinjektion von Cetylalkohol (1/1000-n. kolloidale Suspension)												Cetylalkohol, Stund. nach der Toxininjektion	Tod nach Stund.
		22. I.	23. I.	24. I.	25. I.	26. I.	27. I.	28. I.	29. I.	30. I.	31. I.	1. II.	2. II.		
No. 1 2020 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	starker Tet.	†						—	7
No. 2 1500 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin 10,0 Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	starker Tet.	†						0	7
No. 3 1650 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin	9 ^b vorm. 10 cem Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	†						17	7
No. 4 1800 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin	4 ^b nachm. 10 cem Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	†	24	12
No. 5 1700 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin	10 ^b vorm. 10 cem Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	†	42	12
No. 6 1520 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin		10 ^b vorm. 10 cem Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	starker Tet.	†			66	10
No. 7 1950 g	4 ^b nachm. 0,05 Toxin			10 ^b vorm. 10 cem Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	stark. Tet.	†					90	8

Es geht aus der Tabelle IX hervor, daß die Tiere, welchen Cetylalkohol unmittelbar oder 17 Stunden nach der Toxininjektion injiziert worden war, zu derselben Zeit wie das Kontrolltier, und zwar nach 7 Tagen sterben; beim Tiere, welches die Cetylalkoholinjektion 24 Stunden nach der Toxininjektion erhielt, stellt der Tetanus sich dagegen später ein und es stirbt erst nach 12 Tagen. In dem Falle, wo die Be-

Tabelle

Tetanospasmin +
Mehrere Injektionen von Cetylalkohol

Da- tum	24. I. 1910	25. I.	26. I.	27. I.	28. I.	29. I.	30. I.
No. 8 1500 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	†
No. 9 1600 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. 9 ^h nachm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.
No. 10 1720 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin 9 ^h nachm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. 9 ^h nachm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.
No. 11 1800 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. 9 ^h nachm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.
No. 12 1950 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin		9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. schwach. Tet.
No. 13 1740 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin			9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. schwach. Tet.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. stark. Tet.
No. 14 2020 g	9 ^h vorm. 0,05 Toxin				9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. stark. Tet.	9 ^h vorm. 10 ccm Cetylalk. †

handlung 42 Stunden später vorgenommen wurde, stirbt das Tier auch nach 12 Tagen, 66 Stunden später dagegen nach 10, und 90 Stunden schon nach 8 Tagen. Dem bereits Gesagten zufolge scheint es somit, als ob eine Andeutung an Heilwirkung vorhanden sei. Heilung ist gewiß nicht erzielt, wohl aber eine ausgesprochene Verzögerung der Giftwirkung. Es ist indessen sonderbar, daß die Tiere, welche sofort nach,

X.

Cetylalkohol. ($\frac{1}{1000}$ -n. kolloidale Suspension)							Cetylalkohol, Stund. nach der Toxininjektion	Tod nach Stund.
31. I.	1. II.	2. II.	3. II.	4. II.	5. II.	6. II.	7. II.	
							—	6
9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. schwach. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	†	0 14
9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. schwach. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	†	12 14
9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. kein Tet.	9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. schwach. Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	stark. Tet.	†		24	12
9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. stark. Tet.	sehr stark. Tet.	†					48	9
9 ^h vorm. 10 cem Cetylalk. sehr stark. Tet.	†						72	8
							96	6

und 17 Stunden nach der Injektion behandelt worden sind, gleichzeitig mit dem Kontrolltier sterben, wogegen die später behandelten Tiere erst viel später sterben. Dies läßt sich vielleicht auf folgende Weise erklären: Es dauert bekanntlich einige Zeit, bevor das Toxin resorbiert und an die Nervenzellen gebunden wird, und es findet sich vor der Bindung eine gewisse Zeit in den Lymph- und Blutgefäßen; hier muß es sich, wenn Neutralisation in diesem Stadium stattfinden soll, mit den injizierten Kolloiden mischen; nun läßt es sich wohl annehmen, daß die injizierte Suspension ziemlich schnell auf irgendeine Weise gebunden werde oder in einen anderen, unwirksamen Zustand übergehe, und somit als aktiver Körper aus dem Kreislaufe verschwinde. Falls das Kolloid gleichzeitig mit dem subkutan applizierten Toxin injiziert wird, ist also das Kolloid schon gebunden zu der Zeit, wo das Toxin im Kreislaufe zu finden ist, und dieses kann sich somit ungehindert mit den Nervenzellen verbinden; wird die Kolloidinjektion dagegen etwas später, z. B. 24—40 Stunden nach der Toxininjektion vorgenommen, können Kolloid und Toxin sich im Kreislaufe mischen, und Bedingungen für Giftbindung sind dann vorhanden, ehe das Gift an den Nervenzellen verankert werden kann. Wird das Kolloid anderenteils so spät injiziert, daß das Gift schon an den Nervenzellen gebunden ist, so wird, je nach dem Zeitpunkt der Injektion, keine oder nur eine geringe Wirkung erzielt. Es muß doch hierzu bemerkt werden, daß dieses nur als ein Versuch aufgefaßt werden muß, um anzugeben, auf welche Weise man sich diese Prozesse denken könnte. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, gelang es nicht, die Tiere zu retten, wohl aber, den Vergiftungsprozeß zu verzögern. Es wäre nicht unwahrscheinlich, daß bessere Resultate durch mehrere nach $\frac{1}{2}$ —1-tägigen Zwischenräumen vorgenommene Injektionen erzielt werden könnten und solche Versuche wurden auch unternommen. Die Resultate sind aus Tabelle X (p. 568/69) ersichtlich.

Die geäußerte Ansicht wird durch den Versuch bestätigt. Heilung wurde aber nicht erreicht.

Das Resultat der Versuche mit Cetylalkohol in Olivenöl gelöst findet sich auf Tabelle XI.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß das Tier, welchem Cetylalkohol gleichzeitig mit dem Toxin injiziert

Tabelle XI.
Tetanospasmin + Cetylalkohol.
Cetylalkohol in Ol. Olivae gelöst, 5 cem wurden injiziert.
Einzelinjektionen von Cetylalkohol.

Da- tum	7. II. 1909	8. II.	9. II.	10. II.	11. II.	12. II.	13. II.	14. II.	15. II.	16. II.	17. II.	18. II.	19. II.	20. II.	21. II.	22. II.	23. II.	25. II.
No. 23 ^{4b} nachm. 1570 g 0,08 Toxin				kein Tet.	schwach. Tet.	†												
No. 24 ^{4b} nachm. 1420 g 0,08 Toxin Cetylalk.				kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.
No. 25 ^{4b} nachm. 1300 g 0,08 Toxin Cetylalk.				kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	†				kein Tet.	kein Tet.					
No. 26 ^{4b} nachm. 1370 g 0,08 Toxin			10 ^b vorm. Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein schwach. Tet.	kein schwach. Tet.	†					
No. 27 ^{4b} nachm. 1620 g 0,08 Toxin			4 ^b nachm. Cetylalk.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.		stark. Tet.	†					
No. 28 ^{4b} nachm. 1420 g 0,08 Toxin				10 ^b vorm. Cetylalk. stark. Tet.	†													
No. 29 ^{4b} nachm. 1420 g 0,08 Toxin				4 ^b nachm. Cetylalk.	schwach. Tet.	†												
No. 30 ^{4b} nachm. 1370 g 0,08 Toxin					10 ^b vorm. Cetylalk. kein Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	†										

Tabelle XII.

	Ge- wicht g	29. III. 1910	30. III.	31. III.	1. IV.	2. IV.	3. IV.	4. IV.	5. IV.	6. IV.	7. IV.	8. IV.	9. IV.	10. IV
Myricyl- alkohol	40 1870 41 2140	9 ^a vorm. Toxin 9 ^a vorm. Toxin 10,0 Myricyl 5 ^b nachm. 5,0 Myricyl 9 ^a vorm. Toxin	schwach. Tet. 9 ^a vorm. 10,0 Myricyl	+	schwach. Tet.	stark. Tet. +								
	42 1820	9 ^a vorm. Toxin	9 ^a vorm. 10,0 Myricyl 5 ^b nachm. 10,0 Myricyl	9 ^a vorm. 10,0 Myricyl	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	stark. Tet.	stark. Tet.	stark. Tet.
Cocceryl- alkohol	43 2200	9 ^a vorm. Toxin 9 ^a vorm. 10,0 Cocceryl 5 ^b nachm. 10,0 Cocceryl	9 ^a vorm. 10,0 Cocceryl 5 ^b nachm. 10,0 Cocceryl	9 ^a vorm. 10,0 Cocceryl	schwach. Tet.	+								
	44 2650	9 ^a vorm. Toxin	9 ^a vorm. 10,0 Cocceryl 5 ^b nachm. 10,0 Cocceryl	9 ^a vorm. 10,0 Cocceryl	schwach. Tet.	+								
Paraffin C ₈₄ H ₁₇₀	45 1900	8 ^a vorm. Toxin 9 ^a vorm. 10,0 Paraffin 5 ^b nachm. 10,0 Paraffin 9 ^a vorm. Toxin	9 ^a vorm. 10,0 Paraffin	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	stark. Tet.	+	
	46 1750	9 ^a vorm. Toxin	9 ^a vorm. 10,0 Paraffin 5 ^b nachm. 10,0 Paraffin	9 ^a vorm. 10,0 Paraffin	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	kein Tet.	schwach. Tet.	starker Tet.	+			

wurde, ohne Tetanus am Leben blieb, während bezüglich der übrigen Tiere keine erhebliche Wirkung zu verspüren war. Später habe ich mehrmals vergiftete Tiere durch derartige Injektionen gleichzeitig mit der Toxininjektion zu heilen versucht, eine völlige Beseitigung der Giftwirkung wurde aber später nie erreicht. Versuche mit wiederholten Kolloid-Oelinjektionen sind unternommen worden, aber mit einem nur unerheblich besseren Resultate.

In Tabelle XII sind die Resultate der Versuche mit kolloidalen Suspensionen von Myricyl- und Coccerylalkohol nebst dem Paraffin Tetratriakontan $C_{34}H_{70}$ aufgeführt. Mit

Tabelle XIII.

Tetanospasmin + $\left\{ \begin{array}{l} \text{Myricylalkohol} \\ \text{Coccerylalkohol} \end{array} \right\}$ 5 Proz. in Ol. Olivae.
 $\left\{ \begin{array}{l} \text{Myricylalkohol} \\ \text{Coccerylalkohol} \end{array} \right\}$ 1 Proz. in Ol. Olivae.

	N ^o	Ge- wicht g	29. III. 1910	30. III.	31. III.	1. IV.	2. IV.	3. IV.	4. IV.
Myricyl- alkohol	55	1870	9 ^h vorm.Toxin	schwach. Tet.	†				
	56	1500	9 ^h vorm.Toxin 9 ^h vorm. 5,0 Myricyl 5 ^h nachm. 5,0 Myricyl	9 ^h vorm. 5,0 Myricyl kein Tet.	9 ^h vorm. 5,0 Myricyl kein Tet.	schwach. Tet.	starker Tet.	stark. Tet.	†
	57	1720	9 ^h vorm.Toxin	9 ^h vorm. 5,0 Myricyl 5 ^h nachm. 5,0 Myricyl	9 ^h vorm. 5,0 Myricyl beginn. Tet.	schwach. Tet.	schwach. Tet.	stark. Tet.	†
Cocceryl- alkohol	58	1400	9 ^h vorm.Toxin 9 ^h vorm. 5,0 Cocceryl 5 ^h nachm. 5,0 Cocceryl	9 ^h vorm. 5,0 Cocceryl	schwach.Tet.	sehr starker Tet.	†		
	59	1570	9 ^h vorm.Toxin	9 ^h vorm. 5,0 Cocceryl 5 ^h nachm. 5,0 Cocceryl schwach. Tet.	†				
Paraffin $C_{34}H_{70}$	60	1590	9 ^h vorm.Toxin 9 ^h vorm. 5,0 Paraffin 5 ^h nachm. 5,0 Paraffin	9 ^h vorm. 5,0 Paraffin schwach. Tet.	starker Tet.	†			
	61	1470	9 ^h vorm.Toxin	9 ^h vorm. 5,0 Paraffin 5 ^h nachm. 5,0 Paraffin schwach. Tet.	starker Tet.	†			

Coccerylalkohol wurde keine Wirkung erreicht, wogegen in den Versuchen mit Myricylalkohol und Paraffin eine ausgesprochene Wirkung zu verspüren war.

Aus Tabelle XIII (p. 573), wo Versuche mit denselben, aber in Oel gelösten, 3 Körpern wie in Tabelle XII angeführt sind, ergibt sich, daß die Wirkung des Myricylalkohols eine schwache, während die der zwei anderen Körper eine unmerkbar ist.

Ich werde noch hinzufügen, daß außerdem ein paar Versuchsreihen über prophylaktische Behandlung, aber mit negativem Erfolg ausgeführt worden sind.

Wie oben erwähnt, ließ sich von vornherein keine erhebliche therapeutische Wirkung durch Behandlung mittels kolloider Körper erwarten, und es ist auch aus den angeführten Versuchen ersichtlich, daß die Sache kein praktisches, wohl aber theoretisches Interesse beanspruchen kann.

Zusammenfassung.

1) Bekanntlich vermag Cholesterin verschiedene hämolytische Gifte wie Saponin, Solanin, Tetanolysin, Vibriolysin, Cobralysin u. a. m. zu binden.

2) Wenn Cholesterin in kolloidaler Suspension zur Verwendung kommt, wird eine größere und konstantere Wirkung als auf andere Weise erreicht.

3) Wird die Hydroxylgruppe im Cholesterinmolekül gegen andere Radikale umgetauscht, so wird die bindende Fähigkeit gegenüber dem Saponin, Solanin und Cobralysin völlig, gegenüber dem Tetanolysin dagegen nicht ganz aufgehoben. Es scheint als ob andere Gesetze für das Vibriolysin gelten.

4) Durch Aufheben der Doppelbindung im Cholesterinmolekül wird die Bindungsfähigkeit, falls die betreffenden Körper in prozentischen Suspensionen verglichen werden, bedeutend herabgesetzt, wogegen diese unverändert scheint, wenn die Körper in äquimolekularen Verdünnungen zum Vergleich kommen; unserem gegenwärtigen Wissen zufolge läßt es sich indessen nicht mit Sicherheit sagen, welche Methode am meisten berechtigt ist.

5) Das Bindungsvermögen der kolloidalen Suspensionen ist am größten bei frisch herge-

stellten Suspensionen, und nimmt in der Regel mit deren Alter ab, was vermeintlich durch die Instabilität derartiger Suspensionen verursacht wird.

6) Das Cholesterin bindet nicht (jedenfalls bei den hier verwendeten Dosen) das Tetanospasmin, welches dagegen von Dibromcholesterin gebunden wird; dies rührt wahrscheinlich nicht vom Brom her, weil z. B. das Dibromcholesterylpropionat diese Fähigkeit nur in unerheblichem Grade besitzt.

7) Die Wirkung des Cholesterins als „Antigen“ in der Wassermannschen Reaktion ist von der freien Hydroxylgruppe abhängig, wogegen die Doppelbindung des Moleküls keine Rolle zu spielen scheint (die Suspensionen wurden in äquimolekularen Verdünnungen verglichen).

8) Cholesterin hat eine stark fördernde Wirkung auf die Phagocytose. Der spärlichen Versuche wegen läßt es sich nicht entscheiden, welche Rolle die Doppelbindung und die Hydroxylgruppe des Cholesterinmoleküls spielen; doch deuten die Versuche an, daß in dieser Beziehung weder der Hydroxylgruppe noch der Doppelbindung eine hervortretende Wirkung beigemessen werden könne. Die Wirkung ist kaum eine allgemeine Kolloidreaktion, weil z. B. Suspensionen von Cetyl- und Myricylalkohol ganz unwirksam sind.

9) Durch intravenöse Injektion an Kaninchen von minimalen Cholesterinmengen wird die phagocytäre Fähigkeit im Serum der Tiere ungefähr verdoppelt, und es scheint, daß diese Wirkung sich lange unverändert hält (jedenfalls bis 7 Tage nach einer Einzelinjektion); die injizierte Cholesterinmenge scheint dagegen von geringerer Bedeutung zu sein (jedenfalls Dosen, welche zwischen ca. 0,002 und ca. 0,0002 g Cholesterin per Kilo Kaninchen liegen).

10) Die aliphatischen, einwertigen, primären Alkohole aus der Formel $C_nH_{2n+1}OH$ sind alle mehr oder minder imstande, die verschiedenen hämolytischen Gifte zu binden. Diese Wirkung nimmt stark mit steigendem Kohlenstoffinhalt und Unauflösbarkeit nebst abnehmendem prozentischen Hydroxylinhalt zu.

11) Acetone und Aethyläther können auch die Hämolysewirkung aufheben.

12) Die aromatischen Alkohole Phenol, Resorcin und Phloroglucin sind im Besitze von großen hämolysinbindenden Eigenschaften und die Wirkung nimmt, wie bei den aliphatischen, mit steigendem Kohlenstoffinhalt und abnehmendem prozentischen Hydroxylinhalt zu.

13) Paraffinsuspensionen vermögen auch die Hämolysine zu binden, und diese Fähigkeit nimmt mit steigendem Kohlenstoffinhalt zu.

14) Es ist bei den nämlichen aliphatischen Alkoholen nicht, wie beim Cholesterin, die Hydroxylgruppe, durch welche die antihämolytischen Eigenschaften dieser Körper bedingt werden.

15) Diphtherietoxin wird von den nämlichen aliphatischen Alkoholen, Coccerylalkohol oder höheren Paraffinen nicht gebunden.

16) Dagegen wird das Tetanospasmin von diesen Körpern gebunden, und zwar in so hohem Grade, daß einer Antitoxineinheit (Ehrlich) die untenstehenden Mengen entsprechen:

- ca. 4,8 g Cetylalkohol,
- ca. 1,7 g Myricylalkohol,
- ca. 0,9 g Coccerylalkohol,
- ca. 5 g Paraffin solid. (Schmelzpunkt ca. 52°),
- ca. 0,9 g Paraffin $C_{34}H_{70}$ (Tetratriakontan).

17) Die tetanospasminbindende Fähigkeit der Coccionellae rührt jedenfalls größtenteils von der Wachsort Coccerin her; der in diesem vorkommende Coccerylalkohol ist ebenso von ausgesprochener Wirkung.

18) Keiner der erwähnten Körper vermag das Cobragift oder das Arachnotoxin zu binden.

19) Bei den unternommenen Heilungsversuchen tetanusvergifteter Kaninchen mittelst Cetylalkohol, Myricylalkohol, Coccerylalkohol nebst dem Paraffin $C_{34}H_{70}$, wo das Gift subkutan, die Kolloide dagegen entweder in kolloidalen Suspensionen intravenös oder in Oel gelöst intramuskulär injiziert wurden, ließ sich in der Mehrzahl der Fälle eine Wirkung nachweisen, welche indessen nur als eine Verzögerung des Vergiftungsprozesses zum Vorschein kam, wogegen eine völlige Genesung nicht erreicht wurde.

Versuche über präventive Behandlung mittelst der natürlichen Kolloide haben ein negatives Resultat ergeben.

Literaturverzeichnis.

- 1) Liebreich, Jahresber. über die Fortschritte der Chemie, 1886, p. 2164.
- 2) Pribram, Biochem. Zeitschr., Bd. 1, p. 414.
- 3) Hausmann, Hofmeisters Beiträge, Bd. 6, 1905, p. 567.
- 4) Abderhalden und Le Count, Zeitschr. f. exper. Path. u. Therapie, Bd. 2, 1905, p. 199.
- 5) Madsen, Th., Kraus und Levaditis Handb. d. Technik u. Meth. d. Immun., Bd. 1.
- 6) Obermüller, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 16, p. 143.
- 7) Mauthner und Suida, Monatsschr. f. Chemie, Bd. 15, p. 85 u. 362; Bd. 17, p. 29 u. 579; Bd. 24, p. 175 u. 648.
- 8) Diels und Abderhalden, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 36, p. 3177; Bd. 37, p. 3092; Bd. 39, p. 885 u. 1371.
- 9) Reinitzer, Monatsschr. f. Chemie, Bd. 9, p. 421.
- 10) Windaus, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 39, p. 2008.
- 11) Doree und Gardner, Transact. of the Chem. Soc., Vol. 93, 1908, p. 1328.
- 12) Windaus, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 40, p. 3681.
- 13) Doree, Transact. of the Chem. Soc., Vol. 95, 1909, p. 638.
- 14) Harries, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 40, p. 4154.
- 15) Molinari, ebenda, Bd. 41, p. 585.
- 16) — ebenda, Bd. 41, p. 2782.
- 17) Windaus, Archiv der Pharmacie, Bd. 246, 1908, p. 147.
- 18) Stein, Ueber Cholesterin. Inaug.-Diss. Freiberg i. B. 1905.
- 19) Hausmann, Hofmeisters Beiträge, Bd. 6, 1905, p. 567.
- 20) Abderhalden und Le Count, Zeitschr. f. exper. Path. u. Therapie, Bd. 2, p. 199.
- 21) Porges und Neubauer, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, 1908, p. 152.
- 22) Obermüller, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 15, 1891.
- 23) Diels und Abderhalden, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Bd. 37, p. 3102.
- 24) Windaus, ebenda, Bd. 39, p. 518.
- 25) Obermüller, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 15, 1891.
- 26) — loc. cit.
- 27) Porges und Neubauer, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, 1908.
- 28) Hausmann, Abderhalden und Le Count, loc. cit.
- 29) Staudenski, Ann. d. l'Inst. Pasteur, T. 13, p. 126.
- 30) Metschnikoff, Immunität bei Infektionskrankheiten, 1902, p. 312.
- 31) Liebermann, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 18, p. 1981.

*Nachdruck verboten.***Ueber spezifische Reaktionen bei Lepra.**Von Prof. V. Babes in Bukarest ¹⁾.

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. Juli 1910.)

Auf der im August 1909 tagenden Leprakonferenz habe ich kurz über spezifische Reaktionen bei Lepra berichtet. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle näher auf dieselben einzugehen.

Es würde zu weit führen auf die Frage einzugehen, inwiefern die Lepra als eine streng spezifische Krankheit angesehen werden darf. Die ab und zu auftauchenden Behauptungen, daß dieselbe bloß eine Varietät der Tuberkulose darstellt, ist jedenfalls gänzlich unbegründet und auch die Versuche einiger weniger Autoren, verschiedene Nervenkrankheiten, welche manche auch bei Lepra vorkommende Veränderungen hervorrufen, als Lepraformen anzusprechen, sind als gescheitert zu betrachten.

Es gibt kaum eine andere so scharf umschriebene, durch ihre Aetiologie, durch ihre Symptome und durch ihre makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen so gut charakterisierte Krankheit wie die Lepra, so daß zu erwarten war, daß derselben auch ganz eigentümliche Reaktionen entsprechen dürften.

Es war um so wichtiger nach solchen Reaktionen zu fahnden, als es unzweifelhaft ist, daß im allgemeinen jene Reaktionen, welche bestimmte Krankheiten in charakteristischer Weise beeinflussen, auch mit der Heilung derselben und gewöhnlich auch mit der Immunität gegen dieselben in engem Zusammenhange stehen.

Im Erforschen spezifischer Reaktionen dürfen wir uns zunächst durch verwandtschaftliche Beziehungen der zu untersuchenden Krankheit leiten lassen, und in der Tat konnte festgestellt werden, daß die Lepra, deren Erreger der Gruppe der acidoresistenten Bacillen angehört, in bezug auf seine

1) Die Versuche über Komplementablenkung wurden im Verein mit Dr. V. Busila ausgeführt.

spezifische Reaktion mit der Tuberkulose eine Gruppe bildet und durch gleiche oder ähnliche Substanzen beeinflusst werden kann.

Man kann demnach von Gruppenreaktionen sprechen, indem gewisse mehr oder minder spezifische Substanzen beide Krankheiten, allerdings in scharf unterscheidbarer Weise, beeinflussen.

Wir werden sehen, daß in betreff dieser Reaktionen die Lepra sich von der Tuberkulose, namentlich ihrem sehr chronischen Verlauf gemäß, durch ihr mehr torpides Verhalten, andererseits aber durch ihre größere Empfindlichkeit, besonders gewissen bakteriellen Produkten und gewissen lipoiden Stoffen gegenüber, unterscheidet.

Ueberhaupt gibt es eine Anzahl verschiedener Stoffe, welche den leprösen Organismus in auffallender Weise beeinflussen. Wir können dieselben einstweilen in 5 Gruppen teilen:

1) Aus dem leprösen Organismus, namentlich aus Lepromen gewonnene Stoffe. Hierher gehört das von mir aus Lepra-material bereitete Leprin, dann Emulsionen aus frischem oder altem bacillenhaltigen Lepra-material, endlich Leprabacillen, welche durch Antiformin isoliert wurden.

2) Aus anderen säurefesten Bakterien, namentlich aus Tuberkelbacillen, dann aus weniger pathogenen derartigen Bakterien oder Streptothricheen gewonnene Substanzen. Tuberkulin, Tuberkelbacillenemulsion, alkoholische und ätherische Extrakte von Tuberkelbacillen, Nastin, Extrakt des Timotheusbacillus, etc.

3) Lipoide Substanzen und Extrakte normaler Organe.

4) Verschiedene normale oder spezifische Sera.

5) Verschiedene Substanzen anderer Provenienz, welche erfahrungsgemäß den leprösen Prozeß in verschiedener eigentümlicher Weise beeinflussen (Chaulmoograöl, Garjon Balsam, Cantharidin, Jod).

Wir können unter diesen Substanzen solche unterscheiden, welche

1) bloß den leprösen Prozeß beeinflussen, also als streng spezifische betrachtet werden können, wie Leprabacillen und gewisse Extrakte aus Lepromen, dann

2) solche, welche den leprösen Prozeß in anderer charakteristischer Weise beeinflussen als andere Krankheiten, so das Tuberkulin,

3) solche, welche eine Gruppe von Erkrankungen in ähnlicher Weise beeinflussen, so gewisse Lipoide,

4) Substanzen, welche, ohne mit den leprösen Prozessen im Zusammenhang zu stehen, bei Lepra eine mehr banale Reaktion auslösen, welche sich aber durch ihre Heilwirkung auszeichnet (Chaulmoograöl, Garjonbalsam, Chantharidin, Jod).

Man kann im allgemeinen behaupten, daß jene Substanzen, welche aus Lepraorganen oder aus acidoresistenten Bacillen und Streptotricheen gewonnen wurden, den leprösen Organismus in mehr spezifischer Weise beeinflussen als andere wirksame Substanzen, und zwar sowohl in ihrer Wirkung auf den lebenden Organismus, als auch in ihrer Beziehung zu aus demselben gewonnenen Material (Serum, Sekrete, Exkrete).

Trotzdem können wir nicht behaupten, daß irgendeine dieser Reaktionen für sich allein für Lepra charakteristisch sei; wohl aber sind manche derselben durch die Art ihrer Manifestation und durch die Regelmäßigkeit ihres Auftretens bei Lepra für die Diagnose der Krankheit verwertbar.

I. Spezifisch wirksame lösliche Substanzen bei Lepra.

Die spezifischen Reaktionen stehen zunächst mit Stoffen in Beziehung, welche von dem Erreger der Krankheit oder von den Reaktionsprodukten des Organismus auf den Angriff des Erregers geliefert werden. Es ist demnach festzustellen, ob bei Lepra derartige Substanzen vorhanden sind.

Im Jahre 1900 versuchte ich auf Grund unserer Erfahrungen über diese Krankheit die Gründe zusammenzustellen, welche uns berechtigen, eine spezifische Wirkung solcher Substanzen anzunehmen. Seitdem sind dann noch andere Tatsachen bekannt geworden, welche uns in unserer Ueberzeugung befestigen.

1) Nachdem jede Infektionskrankheit durch Substanzen erzeugt wird, welche vom Erreger ausgehen, indem dieselben sezerniert werden, oder Anteile des Parasiten bilden, und nachdem der durch den Erreger veränderte Organismus ebenfalls in der Regel abnorm funktioniert und infolgedessen

schädliche Substanzen erzeugen kann, nachdem ferner auch die Reaktionsprodukte des Organismus infolge des Angriffs der Krankheitserreger schädlich wirken können, ist es von vornherein unzweifelhaft, daß derartige schädliche, toxische Stoffe auch bei Lepra die Hauptrolle spielen, und daß dieselben, der Spezifität des Erregers gemäß, den Organismus in spezifischer Weise beeinflussen.

2) Früher hatte man vielfach angenommen, daß der Leprabacillus besonders durch seine Gegenwart, durch sein massenhaftes Auftreten wirkt, doch ist diese Ansicht heute wohl allgemein verlassen worden, nachdem nicht immer ein gerades Verhältnis zwischen den leprösen Veränderungen und der Anzahl der Bacillen besteht. Allerdings findet man bei Knotenlepra so große Mengen von Bacillen in den leprösen Produkten, daß dieselben zum großen Teile aus Bacillen zu bestehen scheinen. Hier haben dieselben aber, wie wir gesehen haben, eine sehr geringe Reizwirkung sowohl auf die Leprazellen selbst als auf die Umgebung. Bei der Nervenlepra hingegen findet man gewöhnlich sehr wenige Bacillen, welche aber dennoch ausgebreitete und tiefe Veränderungen hervorrufen und offenbar nicht direkt von der Gegenwart der Bacillen, sondern von deren Produkten hervorgerufen werden. Auch die Tatsache, daß man in der Umgebung der Bacillen und überhaupt in leprösen Produkten oft diffus verbreitete säurefeste, wenn auch gewöhnlich blaß gefärbte Substanzen findet, weist darauf hin, daß die Substanz aufgelöst wird und hierauf eine gewisse Fernwirkung ausüben kann.

Das periodische Fieber im Initialstadium der Krankheit, welches gewöhnlich mit Kongestionen und Erythem einhergeht, ist offenbar mit der Tuberkulinreaktion zu vergleichen, welche durch ein im gewissen Sinne spezifisches Toxin hervorgerufen wird. Dieses Fieber ist, wenigstens nach meinen Erfahrungen, auf die ersten versteckten Lepra-herde, namentlich in den Lymphdrüsen, zurückzuführen, aus welchen Herden infolge verschiedener Reize Lepratoxine frei werden. Aber auch später, bei manifester Lepra, erscheinen zeitweise Fieberanfälle mit Turgeszenz der Leprome und mit neuen Eruptionen, und führen diese Anfälle so wie bei Tuberkulose oft zu einer Erschwerung der Krankheit.

3) Noch deutlicher ist die Rolle der Toxine bei Nervenlepra, indem hier das Fieber und die zugleich auftretenden Erytheme, welche gewöhnlich keine Bacillen enthalten, offenbar einer Toxinwirkung entsprechen. Ebenso geht die Schwellung der Nerven, welche einem spezifischen Reiz ihren Ursprung verdanken, ohne augenscheinliche Vermehrung der Bacillen einher. Ich habe deshalb angenommen, daß in den beiden Formen der Lepra allerdings wenige beständige Varietäten des Bacillus zur Wirkung gelangen, deren eine eine besondere Prädilektion für das sensitive Nervensystem besitzt und hier reichlich Toxine produziert, welche das Nervensystem in der Art einer chronischen Intoxikation mit eigentümlicher Degeneration sensibler Neuronen verändert.

4) Es ist mir einmal gelungen, aus den Organen lepröser Kadaver, besonders aus Knoten der Haut, der Milz, der Lymphdrüsen, welche ungeheure Massen von Bacillen enthielten, eine Substanz zu gewinnen, welche auf Lepröse ebenso wirkte wie das Tuberkulin. Die Organe wurden zu diesem Zwecke mit Glyzerinbouillon fein zerrieben und im Wasserbade bis zur Sirupdicke eingeengt und durch Filterpapier filtriert. Leider gelang es mir in anderen Fällen ebensowenig wie Scholtz und Klingmüller, ein ähnliches Produkt zu gewinnen, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß in den meisten Fällen die Lepra nicht als solche zum Tode führt. Andererseits wäre es auch möglich, daß nicht der Leprabacillus, sondern andere assoziierte Bacillen oder krankhafte Prozesse die tuberkulinähnlich wirkende Substanz bereitet hat.

5) Meine Beobachtung über tuberkulinähnliche Wirkung eines Extraktes von Leprabacillen findet ihre Bestätigung im Nachweis spezifischer Stoffe bei Lepra, welche mit Tuberkulin ebenso wie mit Extrakten von Lepraknoten eine Komplementbindung erzeugen. Die Komplementbindung bei Lepra durch ein System, welches aus Lepraserum und Tuberkulin oder Lepraextrakt besteht, weist darauf hin, daß letztere oder ähnliche toxische Substanzen bei Lepra im Sinne von Antigen wirken, welche zur Bildung reaktiver Antikörper im Blute Anlaß geben.

6) Einen Beweis für die Wirkung toxischer Substanzen bildet auch die eigentümliche Wirkung des Tuberkulins bei Lepra.

II. Die Reaktion Lepröser auf Tuberkuline.

In unserer ersten Mitteilung über die Reaktion Lepröser infolge von Tuberkulineinspritzungen¹⁾ haben wir gezeigt, daß die Leprösen in der Regel auf diese Einspritzungen mit Fieber, mit eigentümlichen, doch spät auftretenden lokalen Veränderungen an den Lepromen reagieren. Schon in unserer ersten Mitteilung, welche sich auf 7 Leprafälle (5 Fälle von Knotenlepra und 2 von Nervenlepra) beschränkt, versuchen wir dieses eigentümliche Verhalten der Lepra zu erklären. Schon in dieser Mitteilung präzisieren wir folgendermaßen die Charaktere der Leprareaktion und die Unterschiede zwischen derselben und der Tuberkulosereaktion.

1) Es bedarf bei Leprösen derselben oder einer etwas größeren Dose des Heilmittels, um die fieberhafte Reaktion auszulösen.

2) Während bei der Tuberkulose die Allgemeinreaktion etwa 6—8 Stunden oder etwas später nach der Injektion beginnt, erscheint das Fieber bei Leprösen in der Regel 24 Stunden, seltener etwa 12 Stunden nach der Einspritzung.

3) Die Symptome und die Dauer der das Fieber begleitenden Erscheinungen sind dieselben und gleich verschiedenartig bei beiden Erkrankungen, dauern aber, ebenso wie das Fieber, länger bei den Leprösen.

4) Während bei Tuberkulose das Fieber sich nach einer Einspritzung selten mehrere Tage wiederholt, ist dies Verhalten bei Leprösen die Regel. Die Wiederholungen haben hier denselben Typus wie der erste Anfall und erscheinen am nächsten Tage, oft am dritten Tage, etwa zur selben Stunde wie der erste Anfall.

5) Während bei Tuberkulose die Akkumulation der Wirkung des Mittels selten beobachtet wird, ist diese Erscheinung bei Leprafällen, wo mehrere Tage hindurch täglich geimpft

1) Babes-Kalindero, Societate de Medicină, Bukarest, 1. Dez. 1890, und Deutsche med. Wochenschr., 1891, No. 3.

wurde, die Regel, und trat schon nach Dosen von 0,002 und 0,003 g ein. Dieselbe ist durch die vorerwähnte Eigentümlichkeit des Fiebers leicht erklärlich und konnte einen hohen Grad desselben und lange Dauer bis 5 Tagen bedingen.

6) Während bei der Tuberkulose die lokale Reaktion von Anfang an zugleich mit dem Fieber in deutlicher Weise hervortritt, fehlt gewöhnlich während der ersten fieberhaften Reaktionen der Leprösen diese Lokalreaktion. Die Lokalreaktion erscheint hier gewöhnlich erst nach mehrtägiger Behandlung zugleich mit bedeutender Allgemeinreaktion, sowie nach Ablauf derselben.

7) Während die Lokalreaktion bei Tuberkulose gewöhnlich in hochgradiger Entzündung und reichlicher Abstoßung tuberkulöser Produkte besteht, welcher bald wesentliche Besserung folgt, ist dieselbe bei Knötchenlepra anfangs kaum wahrnehmbar. Erst während späterer Fieberanfälle entsteht Empfindlichkeit, Rötung und bedeutende Schwellung der leprösen Infiltrationen, welche oft ein beginnendes Erysipel vortäuscht, und auch in der Umgebung der Lepraknoten entsteht eine mehr oder weniger intensive, breite, rote Zone.

Nach Ablauf der Reaktion bemerkt man gewöhnlich Abfall und Verblässung der leprösen Infiltration sowie Vertrocknung, ähnlich einer Verhornung der Lepraknoten, welche an der Oberfläche erodiert, von größeren oder kleineren trockenen Krusten bedeckt sind.

Ganz auffallende Abschwellung trat in einem Falle ein, wo ein Lepröser durch Ergriffensein des Larynx seit vielen Monaten ganz aphonisch geworden war und an Atembeschwerden litt. Bei demselben waren nach 14-tägiger Behandlung Aphonie und Atembeschwerden infolge bedeutender Abschwellung der Infiltration verschwunden.

Bei Nervenlepra, welche sich dem Mittel gegenüber sehr empfindlich erweist und denselben Typus der Allgemeinerkrankung zeigt wie die tuberöse Lepra, ist die Lokalreaktion oft schwer zu konstatieren. In einem Falle ging die Allgemeinreaktion mit bedeutender Rötung der leprösen Flecken einher, während im übrigen nur die allmähliche Besserung des Allgemeinbefindens und des Intellekts, die Wiedererlangung und selbst Erhöhung der Empfindlichkeit anästhe-

tischer Stellen, das schnelle Vertrocknen pemphigoider Eruptionen sowie die bessere Beweglichkeit atrophischer Extremitäten auf eine allmähliche lokale Wirkung des Mittels schließen lassen. Diese differentiellen Charaktere zeugen von neuem für die wesentliche Verschiedenheit zwischen Lepra und Tuberkulose und gestatten uns in gewissen Fällen zu erkennen: 1) ob wir es im gegebenen Falle mit Lepra oder Tuberkulose zu tun haben; 2) ob und wenn die Krankheit sich mit Tuberkulose kombiniert; 3) ob eine verdächtige trophoneurotische Erkrankung lepröser Natur ist oder nicht.

Obwohl wir schon anfangs in der kurzen Zeit der Behandlung Lepröser mit dem Kochschen Mittel manche Zeichen von Besserung erkennen konnten, welche uns mit Zuversicht erfüllen, war noch abzuwarten, ob das Mittel den zweiten und wichtigsten Teil seiner Aufgabe auch bei Leprösen erfüllen wird, ob es dauernde Besserung, ob es Heilung der Leprösen bewirken werde und ob es den Organismus gegen den Auftritt neuer Eruptionen wird schützen können.

Wir ersehen noch aus diesen Untersuchungen, daß es nötig ist, die Kranken sorgfältig zu prüfen, um die eigentümlichen Charaktere der Leprareaktion festzustellen.

Fast zu gleicher Zeit mit unseren Untersuchungen haben verschiedene Autoren, Josef Max¹⁾, Kaposi²⁾, Arning³⁾, Versuche an Leprösen mittels Tuberkulin angestellt, wobei sie ganz unregelmäßige und widersprechende Resultate erzielten. Allerdings haben die erwähnten Forscher ihre Untersuchungen nicht konsequent durchgeführt, sonst hätten dieselben offenbar das charakteristische Fieber und die eigentümlichen Lokalerscheinungen nicht in der Mehrzahl der Fälle konstatiert und des eigentümlichen Charakters desselben Erwähnung getan. Es ist dies um so wahrscheinlicher, als das Fieber und die Lokalerscheinungen ihres späten Auftretens wegen leicht übersehen werden konnte. Es ist gänzlich unwahrscheinlich, daß bei allen unsern Kranken, welche aus tuberkulosefreien gebirgigen Gegenden stammen und sich zum größten Teil eines vorzüglichen Allgemeinbefindens erfreuen, namentlich bei

1) Josef Max, *Semaine Médicale*, 2. Dez. 1890.

2) Kaposi, *Gesellschaft der Aerzte*, Wien, 2. Dez. 1890.

3) Arning, *Deutsche med. Wochenschr.*, 2. Dez. 1890.

jugendlichen Individuen, die keinerlei Zeichen von Tuberkulose aufweisen, Tuberkulose vorhanden gewesen sei, welche die Reaktion bedingt hätte.

Auch haben wir ja gesehen, daß die Leprareaktion sich scharf von der Tuberkulosereaktion unterscheidet.

Es ist demnach ausgeschlossen, daß die Reaktion nur bei Leprösen auftrete, welche zugleich tuberkulös seien, wie dies Arning auf Grund eines einzigen Falles vermutet. Auch Brieger sprach auf der ersten Leprakonferenz diese Vermutung aus, ohne dieselbe aber durch Tatsachen zu stützen und ohne auf die von uns nachgewiesene eigentümliche Form der Leprareaktion einzugehen.

Seit unserer ersten Publikation haben wir das Tuberkulin noch bei 45 Leprösen angewendet und bei denselben genau denselben Charakter der Reaktion feststellen können.

Wir können noch behaupten, daß alle Forscher, welche seitdem eine größere Anzahl von Leprösen mit Tuberkulin untersuchten, zu demselben Resultate gelangt sind; nur jene, welche die von uns festgestellten Eigentümlichkeiten der Leprareaktion nicht beachteten, welche bloß einmal mit ungenügender Dose impften, welche nicht die Zeit des Beginnes des Fiebers feststellten, welche im Anfang eine der tuberkulösen Lokalreaktion identische Lokalreaktion bei Lepra erwarteten, welche also nicht sorgfältig genug gearbeitet hatten, konnten noch fernerhin behaupten, daß die Leprösen nicht auf Tuberkulin reagieren.

Wir selbst haben nur wenig den ersten Untersuchungen hinzuzufügen ¹⁾.

1) Während das Maximum der fieberhaften Reaktion bei Tuberkulösen schon am Tage nach der Reaktion auftritt, wird dasselbe bei der Lepra gewöhnlich erst später, 2—3 Tage nach der Injektion erreicht.

2) In manchen Fällen von Knotenlepra kann schon eine Tuberkulindose unter 1 mg eine ungemein intensive, und bis zu einer Woche dauernde fieberhafte Reaktion hervorrufen, welche 40° überschreitet und das Leben des Patienten gefährden kann.

1) Kalenedre-Babes, Injections de Lymphes de Koch dans les différentes formes de Lèpre, *Revue de Méd.*, T. 11, Oct. 1891.

3) Auch die pseudo-erysipelatöse Form der Reaktion kann einen hohen Grad und eine große Ausbreitung erreichen, welche eine ganz bedeutende Abschwellung des leprösen Gewebes im Gefolge hat. In einem Fall war nach einer solchen Schwellung eine eitrige, langsam heilende Parotitis aufgetreten. Derartige ungemein heftige Reaktionen auf sehr geringe Tuberkulindosen sind in manchen Fällen ein weiterer Charakter der leprösen Reaktion.

4) Noch nach 2-monatlicher Behandlung konnten wir durch geringe Steigerung der Dose des Tuberkulins ungemein heftige Reaktionen auslösen, so daß wir annehmen müssen, daß Lepröse sich viel weniger an das Mittel gewöhnen als Tuberkulöse.

5) Nach 3-monatlicher Behandlung bemerkt man bei den meisten Patienten eine sehr bedeutende Besserung des Lokalzustandes. Auch der Allgemeinzustand ist günstig beeinflußt. Im allgemeinen ist die Besserung im geraden Verhältnis zur Intensität der Reaktion. Leider sind diese Besserungen nicht anhaltend. Das abgeblaßte Gesicht und die Leprome röteten sich und schwellen von neuem und die geschwundene Aphonie tritt allmählich von neuem auf. In der Folge haben wir unsere Beobachtungen fortgesetzt, wobei wir nebst den erwähnten Reaktionen noch folgendes feststellten:

a) Bei 4 Leprösen haben wir in 4 Monaten bessere Resultate als bisher, mit einer kombinierten Methode, 1 mg Tuberkulin, immer nach Ablauf der Reaktion wiederholt und Chaulmoograöl innerlich, erzielt. Diese Resultate sind nicht weniger günstig als die mittelst Nastin oder Nastin und Chaulmoograöl erzielten.

b) Wir haben im ganzen 7 an Lepra Verstorbene seziert. Dieselben waren vorher mittelst Tuberkulin behandelt worden. Alle diese hatten auf Tuberkulin in charakteristischer Weise reagiert, indem die Reaktion spät aufgetreten und länger gedauert hat als bei Tuberkulösen. Unter diesen 7 Leprösen fanden sich 4 lokale, chronische, tuberkulose Lungenveränderungen, zum Teil mit Kavernen. Hier konnten die Tuberkelbacillen und die tuberkulösen Veränderungen gut von den leprösen unterschieden werden. Bei den 3 nicht Tuberkulösen wurde als Todesursache Erschöpfung oder Nephritis gefunden. Hier konnte selbst nach sorgfältiger Untersuchung keine Spur

von tuberkulösen Veränderungen oder von Tuberkelbacillen entdeckt werden, und auch die mit leprösem Material injizierten Meerschweinchen blieben gesund. Der einzige Unterschied in betreff der Reaktion war die etwas größere Empfindlichkeit und die längere Dauer der Reaktion bei den zugleich tuberkulösen Leprösen.

In letzterer Zeit haben nun Slatineanu und Danielopolu von neuem behauptet, daß die Leprösen nur dann auf Tuberkulin reagieren, wenn dieselben zugleich tuberkulös sind. Leider haben aber diese Autoren ihre Kranken bloß einmal geimpft und bloß 3 Tage lang beobachtet.

1) Zunächst haben sie unsere Arbeiten nicht gelesen und glaubten deshalb, daß es genügt, ihre Kranken während 3 Tagen zu beobachten, um diese Frage zu erledigen. Es ist aber eine elementare Regel, daß man, um die Tuberkulinreaktion festzuellen, 1—2 Tage vorher die Temperatur des Kranken messen muß, so daß man erst am 3. Tage die Kranken mit Tuberkulin impfen soll. Wenn die Autoren also die Kranken bloß 3 Tage beobachtet haben, konnten sie keinesfalls wissen, ob dieselben nicht schon vorher Fieber hatten. Es ist dies um so wichtiger, als Lepröse oft fieberhafte Anfälle zeigen.

2) Da diese Autoren unsere Arbeiten nicht kannten, glaubten sie, daß die Reaktion bei Lepra dieselbe sei wie bei Tuberkulose, und daß es genügt, zu sehen, ob Fieber aufgetreten ist.

3) Diese Autoren haben aber die Temperatur nicht so genommen, wie bei Tuberkulösen die Regel ist, und haben namentlich nicht festgestellt, wann das Fieber bei ihren Kranken begann.

4) Obwohl wir festgestellt hatten, daß die Tuberkulinreaktion bei Leprösen oft erst 24 Stunden nach der Impfung auftritt und daß sich dieselbe in der Regel nächsten Tages wiederholt, haben diese Autoren sich nicht überzeugt, ob das Fieber sich nicht am 3. Tage wiederholt.

5) Die Autoren behaupten, daß das Fieber bei Leprösen sein Maximum nach 36 Stunden erreicht, was nicht exakt ist; das Fieber erreicht oft erst am 3. oder 4. Tage sein Maximum. Da die Autoren aber nur 3 Tage lang beobachteten, konnten sie natürlich dieses Maximum nicht feststellen.

6) Da die Autoren unsere Arbeiten nicht kannten, und da sie auch nicht berücksichtigt hatten, daß man auch bei der Probe auf Tuberkulose öfters impfen muß, haben sie sich mit einer einzigen Impfung begnügt (!). Wir haben doch fortwährend betont, daß bei Lepra, ebenso wie bei Tuberkulose öfters geimpft werden muß, um eine Diagnose stellen zu können.

Ebenso wie bei der Probe auf Tuberkulose hatten die Autoren zunächst mit Dosen von 0,5 oder 1 mg beginnen müssen, dann bei mangelnder Reaktion nach 4 Tagen eine größere Dose, und bei negativem Ausfall wieder nach mehreren Tagen eine noch größere Dose anwenden müssen.

7) Ich habe immer betont, daß man nicht nur öfter impfen muß, was natürlich eine viel längere Beobachtungsdauer als 3 Tage benötigt, sondern

daß man auch zu größeren Tuberkulindosen gelangen muß, um in manchen Leprafällen eine Reaktion auszulösen. Andererseits habe ich davor gewarnt, gleich mit größeren Dosen zu beginnen, da auf solche Dosen wochenlanges Fieber und Gefährdung des Lebens des Kranken erfolgen kann. Dies alles haben diese Autoren nicht berücksichtigt und haben dieselben bei 20 Leprösen Injektionen von 3 mg Tuberkulin gemacht, dieselben dann bloß 3 Tage beobachtet (!).

8) Diese Autoren behaupten, ich hätte bei Leprösen eine Lokalreaktion wie bei Tuberkulose, also schon nach einer einzigen Injektion zugleich mit dem Fieber beschrieben. Im Gegenteil habe ich aber dazu betont, daß eine solche Lokalreaktion, welche die Autoren in 3 Tagen hätten beobachten können, gewöhnlich nicht besteht, und natürlich konnten deshalb dieselben eine solche bei einer 3-tägigen Beobachtung nicht finden. Wie wir gesehen haben, treten Veränderungen der leprösen Stellen infolge der Tuberkulininjektionen erst viel später auf.

9) Während ich bei der Sektion von 3 Leprösen, welche auf Tuberkulin reagiert hatten, keine Spur von Tuberkulose finden konnte, haben diese Autoren keinerlei Basis, behaupten zu können, daß ihre Kranken, welche auf Tuberkulin reagiert haben, tuberkulös seien. Sie haben weder die Produkte, noch das Sputum solcher Kranken auf Tuberkulose untersucht, und verfügen über keine einzige Sektion, welche ihre Behauptung beweisen könnte. Sie müßten aber in einer Reihe von Sektionen nachweisen, daß alle Lepröse, welche reagiert hatten, tuberkulös sind, und daß eine Reihe von Leprösen, welche keinerlei tuberkulöse Veränderungen zeigen, nicht reagiert hatten. Uebrigens konnten diese Autoren auch nicht wissen, welche ihrer Kranken reagieren und welche nicht reagieren, da dies durch eine bloß 3-tägige Beobachtung nicht eruiert werden kann.

10) Wenn sie die Leprösen regelrecht tuberkulinisiert hätten, so wie dies bei Tuberkulösen geschieht, hätten sie unbedingt gefunden, daß fast alle Leprösen auf Tuberkulin reagieren, so daß sie entweder annehmen müßten, daß alle Leprösen tuberkulös sind, was eine Absurdität wäre, oder daß die Leprösen als solche reagieren, und nicht weil sie tuberkulös sind, was eben den Tatsachen entspricht.

11) Diese Autoren glauben ihre Behauptung, daß nur Lepröse, welche zugleich tuberkulös sind, reagierten, auch dadurch stützen zu können, daß sie behaupten, daß beiläufig nur jene Lepröse die Ophthalmoreaktion mittelst Tuberkulin zeigen, welche auch auf die Kochsche Tuberkulinprobe reagiert hatten. Dies ist aber unexakt, denn die Autoren haben ja ungenau gearbeitet, und wissen deshalb ja gar nicht, welche ihrer Patienten auf die Kochsche Probe reagiert haben. Sie können demnach nur sagen, daß etwa die Hälfte ihrer Kranken die Ophthalmoreaktion gezeigt haben, während angenommen werden muß, daß fast alle Kranken auf die Kochsche Probe reagieren. Es ist also keine Analogie zwischen der subkutanen und der conjunctivalen Probe. Ob die Ophthalmoreaktion bloß die zugleich tuberkulösen Leprösen anzeigt oder nicht, weiß ich nicht, und kann dies auch durch die Versuche von Slatineanu und Danielopolu nicht erwiesen werden.

12) Endlich haben diese Autoren auch die Bordet-Gengousche Methode der Komplementablenkung bei Leprösen versucht, indem sie das Tuberkulin als Antigen verwendeten. Aber auch hierbei hat ihre Versuchsanordnung ihnen einen bösen Streich gespielt. Sie fanden nämlich, daß etwa die Hälfte der Leprösen bei dieser Probe in der Tat eine Komplementablenkung zeigten, und folgern daraus, daß die betreffenden Kranken zugleich tuberkulös seien. Diese Autoren hatten nämlich nicht gewußt, daß bei der gewöhnlichen, von ihnen angewendeten Methode, eben die meisten Tuberkulösen die Reaktion nicht oder nur unvollkommen zeigen (!!). daß also die positive Reaktion bei Leprösen durchaus nicht Tuberkulose bedeutet. Im Gegenteil zeigt die positive Reaktion bei Leprösen, daß dieselben nicht deshalb reagieren, weil sie zugleich tuberkulös sind, sondern weil sie eine andere Krankheit als Tuberkulose haben, bei welcher Krankheit die Reaktion positiv ist, und diese Krankheit ist eben die Lepra.

Sie haben deshalb das Gegenteil dessen bewiesen, was sie behaupteten, sie bewiesen, daß die Leprösen auf Tuberkulin nicht deshalb reagieren, weil sie zugleich tuberkulös sind, sondern daß sie reagieren, weil sie leprös sind.

Die Arbeiten dieser Autoren sind demnach nicht ernst zu nehmen und ist ein für allemal als feststehend zu betrachten, daß das Tuberkulin auf Lepröse in spezifischer Weise, und zwar ganz anders als auf Tuberkulose reagiert.

Allerdings sind viele Lepröse zugleich tuberkulös, und fragt es sich wie die Tuberkulose in Verbindung mit Lepra auf Tuberkulin reagiert.

Eine Assoziation der beiden Krankheiten besteht bei unseren Kranken, welche in gesunden, gebirgigen Gegenden, mit sehr schütterer Bevölkerung wohnen, und in welchen Tuberkulose kaum vorkommt, wohl nicht vom Beginn der Lepra an, erst wenn der Organismus durch hochgradige lepröse Veränderungen geschwächt ist, gewöhnlich kurze Zeit vor dem Tode, konstatiert man auch klinisch oft Tuberkulose. Natürlich können aber auch früher weniger manifeste oder latente Tuberkuloseherde bestehen. Die Veränderungen nach dem Tode können aber nicht ohne weiteres auf vor Monaten oder Jahren ausgeführte Tuberkulinimpfungen bezogen werden. Es ist ganz gut möglich, daß nach dem Tode Tuberkulose gefunden wird, während zur Zeit der Tuberkulinimpfungen der Lepröse noch nicht tuberkulös war.

Es ist demnach schwer, auf die obige Frage sicher zu antworten. Allerdings fanden wir bei einem Kranken neben Leprabacillen zahlreiche Tuberkelbacillen im Sputum, welche leicht als solche erkannt wurden und auch bei Meerschweinchen Tuberkulose verursachten. In diesem Falle sowie in anderen, in welchen Tuberkulose vermutet wurde, dann in einem Falle, in welchem der Patient wenige Wochen nach der Tuberkulininjektion starb, war die Reaktion besonders heftig, begann schon nach der ersten Injektion von 0,5 mg, aber ebenso wie in Fällen, in welchen Tuberkulose nicht vorhanden war, spät und wiederholte sich mehrere Tage hindurch, ebenso wie bei reiner Lepra. Bei Anwendung von 1–3 mg Tuberkulin war in einem Falle die fieberhafte Reaktion bei Leprösen, welche auch tuberkulös waren, besonders heftig und langdauernd, und fand sich ein auffallender allgemeiner Erregungszustand, sowie deutliche Rötung und Schwellung der leprösen Stellen, welche wenige Tage nach der Impfung auftrat.

Wir haben in letzter Zeit 10 Lepröse auf ihre Empfindlichkeit gegen Tuberkulin untersucht, und noch folgendes gefunden:

1) Schwächliches Mädchen mit tuberöser Lepra, zeigt 10 Stunden nach der Injektion von 0,2 mg Tuberkulin (Merck) Temperaturerhöhung um $0,5^{\circ}$, welche 16 Stunden andauerte. Nach 2 Tagen wurde mit derselben Dose keine Reaktion erzielt. Nach 3 Tagen wurde 1 mg geimpft, worauf nach 14 Stunden eine Temperatursteigerung von $0,5^{\circ}$ erfolgte, welche nach 12 Stunden vorüberging.

2) 20-jähriges Mädchen, mit Knotenlepra und beginnenden trophoneurotischen Erscheinungen, Heiserkeit. 12 Stunden nach der Injektion von 0,2 mg Tuberkulin eine 12 Stunden andauernde Temperatursteigerung von $0,7^{\circ}$. Nach 2 Tagen wurde mittelst derselben Dose keine Reaktion erzielt. Nach 3-tägiger Pause wurde wieder mittelst 1 mg schwache Temperatursteigerung ($0,5^{\circ}$) erzielt. Nach 4-tägiger Pause 2 mg Tuberkulin. Temperatur nach der Injektion $36,8^{\circ}$, nach 12 Stunden $38,2^{\circ}$, nach 36 Stunden $36,6^{\circ}$. Keinerlei Lokalreaktion. Nach weiteren 8 Tagen bedeutende Abschuppung und Abfall der Leprome, Stimme klar. Allgemeinzustand gebessert.

3) 24-jähriger, in der Entwicklung zurückgebliebener Lepröser. Vor der Injektion 37° . 0,2 mg Tuberkulin verursacht nach 12 Stunden eine Steigerung der Temperatur von $0,5^{\circ}$. Nach 2 Tagen eine Wiederholung derselben Dose ohne Reaktion. Nach 3 Tagen $36,7^{\circ}$ vor der Injektion. 3 mg Tuberkulin, nach 10 Stunden $39,2^{\circ}$, nächsten Morgen $38,5^{\circ}$, Nachmittag $39,4^{\circ}$, nächsten Morgen $38,5^{\circ}$, Nachmittag $39,4^{\circ}$. Das Fieber steigt nächsten Tages auf 40° , und erhält sich mit geringen Morgenremissionen

5 Tage lang auf 39–40°, indem am 4. und 5. Tage dasselbe allmählich auf 39° und 38° gesunken war.

Auch hier war bloß am 4. Tage der Reaktion geringe Rötung und Schwellung der Leprome zu bemerken, während nach Ablauf des Fiebers bedeutende Abschuppung und Abblassung der Leprome mit Hebung des Allgemeinzustandes konstatiert werden konnte.

4) Mäßig entwickelter 30-jähriger tuberöser Lepröser. Temperatur 36,4°. Nach Injektion von 0,2 mg Tuberkulin keine Reaktion, ebenso nach der Wiederholung derselben Dose nach 2 Tagen. Nach 3 Tagen 3 mg Tuberkulin, welche 14 Stunden nach der Injektion eine Steigerung der Temperatur auf 39,6° erzielten. Nächsten Tages morgens Remission und hierauf wieder Steigerung auf 39,5°. Nächsten Tages definitiver Abfall. Auch hier war diese Reaktion nach 2 Tagen von bedeutender Desquamation und Abfall der Knoten, Besserung des Allgemeinbefindens, des Appetits, der Muskelkraft gefolgt.

5) Schwächlicher, in der Entwicklung zurückgebliebener Lepröser von 35 Jahren, Knotenlepra. Temperatur 36°. Auf 0,5 mg Tuberkulin keine Reaktion. Nach 3 Tagen 1 mg, worauf nach 15 Stunden Temperatursteigerung auf 39,3°, welche nächsten Tages morgens auf 38° zurückgeht, um dann wieder heftiger aufzutreten 40°, Schüttelfrost, diffuse Rötung und Schwellung des Gesichtes; nächsten Tages Remission und schwächerer Anfall. Nach 4 Tagen definitiver Abfall. Hierauf bedeutende Abschuppung und Abschwellung.

6) Schwächlicher Lepröser, 18 Jahre alt, 37°. Nach der Injektion von 0,5 mg Tuberkulin keine Reaktion, ebenso nach Injektion von 1 mg. Nach 4 Tagen 3 mg Tuberkulin, worauf nach 20 Stunden die Temperatur rasch auf 39,5° ansteigt und sich nachts über auf dieser Höhe erhält. Morgens Remission, dann wieder Anstieg, nächsten Tages definitiver Abfall.

7) 16-jähriger in der Entwicklung zurückgebliebener Lepröser. Temperatur 36,2°. Auf 0,5 mg Tuberkulin keine Reaktion, nach 2 Tagen auf 1 mg keine Reaktion, nach 4 Tagen auf 3 mg nach 18 Stunden heftige Reaktion, Schüttelfrost, Erbrechen, Prostration 40°, nächsten Morgen Remission, dann wieder Anstieg bis zu 40,2°, nächsten Morgen sowie noch am 4. Tage wiederholt sich das Fieber, welches aber niedriger ist und am 5. Tage nicht wiederkehrt. Hierauf ganz auffallende Besserung aller Symptome, Heiserkeit geschwunden. Muskelkraft, Appetit erhöht, Abschuppung und Abblassung der Leprome.

8) 40-jähriger gut entwickelter Lepröser mit vorwiegender Nervenlepra und Amputationen, bloß im Nasensekret Leprabazillen.

Temperatur 36,8°. Auf 0,5 mg Tuberkulin keine Reaktion, nach 3 Tagen 1 mg ohne Reaktion, nach 4 Tagen 3 mg. Reaktion, welche schon nach 3 Stunden begann, doch erst nach 12 Stunden ihren höchsten Punkt 39,8° erreichte, nächsten Tages Remission und ein neuer schwächerer Anfall. Subjektive Besserung.

9) 35-jährige Lepröse mit Nervenlepra. Keine Bacillen im Nasensekret. 36,2°. Auf 0,5 mg Tuberkulin keine Reaktion, nach 3 Tagen auf

1 mg Reaktion, welche nach 8 Stunden beginnt, auf 38,8° steigt und sich nächsten Tages wiederholt.

10) 20-jähriger Lepröser. Seit 9 Jahren keine Manifestation. Knotenlepra ohne Bacillen, weder in den sulzig-fibrösen Schwellungen noch im Nasensekret. Auf 0,5 mg keine Reaktion, ebensowenig auf 1 mg und auf 3 mg.

11) 25-jähriger tuberöser Lepröser, gut entwickelt. Wenig Bacillen in den pigmentierten Knoten, viele im Nasensekret. Temperatur 36,5. Auf 0,5 und auf 1 mg keine Reaktion. Drei Tage später mäßige Reaktion auf 5 mg Tuberkulin. Beginn 23 Stunden nach der Injektion. Temperatur steigt auf 39° und fällt nach 15 Stunden auf 38°, hierauf von neuem Anstieg der Temperatur auf 38,8°. Nächsten Tages definitiver Abfall.

Unter 11 Leprösen war demnach, mit Ausnahme eines einzigen Falles, welcher als zurzeit geheilt oder wenigstens als nicht aktiv betrachtet werden kann, die Kochsche Tuberkulinprobe positiv ausgefallen, indem so geimpft wurde, wie dies für Tuberkulose vorgeschrieben ist. In den meisten Fällen trat die Reaktion erst nach wiederholter Impfung auf, und zwar später als bei Tuberkulose. Die Temperatursteigerung wiederholte sich in der Regel nächsten Tages und in einigen Fällen noch öfters und ging öfters mit anderen Allgemeinerscheinungen einher.

In keinem Falle fand sich bis zum dritten Tage der Beobachtung Lokalreaktion, wie ich dies wiederholt betont habe. Erst später traten Lokalerscheinungen, gewöhnlich gefolgt von augenfälliger Besserung, ein.

Da keiner der Leprösen nach sorgfältiger Beobachtung und Sputumuntersuchung Zeichen von Tuberkulose zeigte und da die Reaktion von jener Tuberkulöser abweicht, konnte man schon nach dieser Probe schließen, daß die Lepra als solche die Reaktion ausgelöst hatte. Diese Annahme ward aber zur Gewißheit, nachdem wir dieselben Leprösen noch in anderer Weise, namentlich auf ihr Verhalten gegenüber Tuberkulin, mittels der Komplementablenkungsprobe geprüft hatten.

Alle Autoren, welche eine größere Anzahl von Leprösen beobachten konnten, stimmen heute darin überein, daß die Leprösen als solche auf die Injektion von Tuberkulin reagieren, und nenne ich bloß Robert Koch, Kitasato, Nicolle, sowie alle jene Mitglieder der Leprakonferenz zu Bergen, welche Gelegenheit hatten, diese Probe an einem größeren Krankenmaterial zu versuchen.

III. Die Ophthalmoreaktion der Lepra.

Diese Reaktion, welche für Tuberkulose ziemlich charakteristisch ist, obwohl dieselbe nicht als ganz zuverlässig und oft als mit unangenehmen Reizerscheinungen verbunden beschrieben wird, tritt nach einmaliger Instillation eines Tropfens von $\frac{1}{100}$ Tuberkulin in den Conjunctivalsack etwa 6 Stunden nach der Instillation in Form einer auffälligen Injektion der Conjunctiva auf, welche nächsten Tages gewöhnlich geschwunden ist, sich aber manchmal längere Zeit erhält. Es scheint, daß eine zweite Instillation auch bei nicht tuberkulösen Individuen die gleiche Reaktion auslöst, und auch eine vorherige Tuberkulininjektion kann bei nicht Tuberkulösen eine Ophthalmoreaktion auslösen. Wir haben deshalb diese Reaktion vor der Tuberkulineinspritzung vorgenommen und sind hierbei zu Resultaten gekommen, welche mit jenen anderer Forscher nicht ganz übereinstimmen.

Zuerst haben Nicolle und Uriarte, dann Amaral und Paranhos in Brasilien diese Probe bei Leprösen angestellt. Letztere fanden unter 20 Leprösen die Probe bei 17 negativ, bei den 3 positiv reagierenden war Lungen- oder Gelenktuberkulose vorhanden.

Diese Resultate stimmen weder mit jenen Slatineanu und Danielopolus überein, welche die positive Reaktion in mehr als der Hälfte der Fälle, in 15 unter 24 Fällen, von Lepra verzeichnen, noch mit unseren, indem wir unter 11 Fällen in 8 Fällen positive Ophthalmoreaktion verzeichnen konnten. Da man bei meinen Leprösen Tuberkulose in der Mehrzahl der Fälle sicher ausschließen konnte, so ist anzunehmen, daß auch diese Reaktion nicht unbedingt Tuberkulose anzeigt, sondern auch bei reiner Lepra vorkommen kann.

Wenn in den Fällen von Slatineanu und Danielopolu beiläufig dieselben Individuen, welche auf Tuberkulin subkutan reagiert hatten, auch die Ophthalmoreaktion gaben, so ist dies wohl ein Zufall, nachdem weder in den Versuchen der oben erwähnten Autoren noch in meinen Fällen dies zutrifft. Es ist zunächst ausgeschlossen, daß unter 20 Leprösen bloß 3 die Kochsche Probe geben sollten, da ich im Gegenteil nachgewiesen habe, daß fast alle Leprösen diese Reaktion geben.

Es ist demnach bestimmt vorauszusetzen, daß die 20 Fälle der brasilianischen Autoren fast alle die Kochsche Probe gegeben hätten und nicht bloß 3 ihrer Fälle.

In meinen Fällen war die Ophthamoreaktion positiv in Fall 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, und negativ in Fall 2, 3 und 10, trotzdem die Fälle 2 und 3 eine positive Kochsche Probe gegeben hatten. Diese 2 Fälle wären also nach der Kochschen Probe tuberkulös, nach der Ophthamoreaktion nicht tuberkulös.

Auch unter den Fällen Slatineanus und Danielopolus ist einer mit positiver Kochscher Probe und negativer Ophthamoreaktion und ein anderer mit geringer Ophthamoreaktion und negativer Kochschen Probe.

Die Fälle Slatineanus und Danielopolus sind übrigens, wie wir oben bewiesen haben, wertlos, nachdem diese Autoren die Kochsche Probe fehlerhaft ausgeführt haben und demnach nicht wissen, welche Lepröse nach Koch positiv und welche negativ reagiert hatten.

Es wäre allerdings möglich, daß die Ophthamoreaktion bei gewissen schwächlichen oder empfindlichen Leprösen auftritt und daß in gewissen Fällen vielleicht auch eine konkomittierende Tuberkulose das Auftreten der Reaktion begünstigt; soviel scheint aber aus den wenigen bisherigen Untersuchungen hervorzugehen, daß bei Leprösen zwischen positiver Ophthamoreaktion und konkomittierender Tuberkulose kein inniger Zusammenhang besteht. Wir werden sehen, daß auch die vergleichende Untersuchung der Komplementablenkung keine sicheren Schlüsse zuläßt, so daß in Bezug auf diese Reaktion wir uns dahin aussprechen müssen, daß der positive Ausfall der Ophthamoreaktion bei Lepra nicht für die Annahme einer konkomittierenden Tuberkulose zu verwerten ist, da auch nicht tuberkulöse Lepröse diese Reaktion geben können und da namentlich öfters Patienten, welche positive Ophthamoreaktion geben, nicht die Kochsche Probe (subkutane Tuberkulinreaktion) geben und umgekehrt. Daß tuberkulöse Lepröse die Reaktion geben, ist ja selbstverständlich, doch ist diese Reaktion wertlos, sobald auch nicht tuberkulöse Lepröse reagieren können.

Es ist demnach nicht angebracht, mittels dieser Reaktion bei Lepra beweisen zu wollen, daß die Leprösen nur dann

die Kochsche Probe geben, wenn sie zugleich tuberkulös sind, wie dies Slatineanu und Danielopolu unternehmen.

Was die v. Pirquetsche Reaktion bei Lepra betrifft, wurde dieselbe zunächst von M. C. Nicolle in Tunis¹⁾ bei mehreren Leprösen versucht. Dieser Autor kam zu negativen Resultaten; da er aber bei Leprösen auch keine positive Ophthamoreaktion beobachten konnte, müssen wir die Resultate dieses Autors mit Vorsicht betrachten. Allerdings konnte ich selbst bei 2 tuberös Leprösen mittels der Pirquetschen Reaktion in einem Falle keine, im andern bloß undeutliche Cutireaktion hervorrufen. Wir werden gelegentlich diese Reaktion bei einem größeren Krankenmaterial genauer untersuchen.

Wir haben aus den angeführten Tatsachen die Ueberzeugung gewonnen, daß das Tuberkulin, namentlich nach subkutaner Einspritzung in derselben Weise angewendet wie zur Diagnose der Tuberkulose, auch bei Lepra eine Reaktion auslöst, welche sich aber wesentlich von jener bei Tuberkulose unterscheidet, so daß man behaupten kann, daß das Tuberkulin, bei Lepra in dieser Weise verwendet, eine für dieselbe charakteristische spezifische Reaktion auslöst. Die Ophthamoreaktion und die Pirquetsche Cutireaktion bei Lepra bedürfen noch sorgfältiger Nachprüfung.

IV. Die Komplementablenkung bei Lepra.

(Im Verein mit Dr. V. Busila.)

Bis in die letzte Zeit hat man vorausgesetzt, daß das Bordet-Gengousche Verfahren der Fixation des Alexins oder die Wassermannsche Methode der Komplementablenkung eine streng spezifische Reaktion darstellt, in welcher es sich um die Bildung eines Systems aus dem spezifischen Antikörper und dem Antigen handelt.

Erst neuestens ist bekanntlich nachgewiesen worden, daß in dieser Reaktion verschiedene spezifische Körper im kom-

1) Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis, 1907, No. 4.

plementbildenden System das Antigen vertreten können. Wir werden demnach untersuchen müssen, ob die Lepra geeignet ist, derartige Reaktionen auszulösen, und ob dieselben als spezifisch betrachtet werden können.

1. Lepraserum und Lepraextrakte.

Zunächst wurde schon seit längerer Zeit für einzelne Leprafälle festgestellt, daß eine Emulsion oder ein Extrakt aus frischen Lepromen mit Lepraserum ein komplementbildendes System bilden kann, während normalem Serum diese Eigenschaft nicht zukommt.

Zunächst hatten Eitner¹⁾, dann Slatineanu und Danielopolu, sowie wir selbst, ferner Ehlers, Weinert und Lie Fälle von Lepra veröffentlicht, in welchen deren Serum mit Lepraemulsion oder Lepraextrakten ein komplementbildendes System bilden.

Gewöhnlich wurde die Wassermannsche Versuchsanordnung angewendet und festgestellt, daß bei allen Leprösen 0,2—0,002 mg Lepraserum mittels Extrakten von Lepraknoten vollkommene Komplementablenkung bei allen untersuchten Leprösen auslöst. Schon Eitner l. c. hatte sich zunächst überzeugt, daß normale Haut mit Lepraserum keine Ablenkung hervorbringt, und auch meine Untersuchungen ergeben, daß weder normales Serum, noch Syphilisserum, noch Lepraserum mittels wässriger oder alkoholischer Extrakte normaler Haut Ablenkung zeigt. Auch die Haut Lepröser von Stellen, welche nicht von Lepromen eingenommen sind, gab mir mit Lepraserum keine Reaktion. Allerdings muß man zunächst die Haut von Fett befreien, da das Hautfett lipoiden Substanzen enthält, welche in größerer Menge eine unvollkommene Ablenkung bei Leprösen erzeugen können. Ueberhaupt ist Lepraserum, wie wir noch sehen werden, gegen Lipide sehr empfänglich, so daß man bei Kontrolluntersuchungen dies Verhalten berücksichtigen muß.

Daß es sich bei dieser Reaktion nicht um eine einfache Lipoidreaktion handelt, konnte ich leicht feststellen, indem derselbe Lepraknotenextrakt, parallel mit derselben Menge

1) Eitner, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 15.

Syphilisserum versetzt, in der Regel keine Ablenkung verursacht, während dieses Serum bekanntlich ebenfalls auf Lipoide reagiert. Bloß ausnahmsweise wurden Spuren von Ablenkungen durch Lepraextrakte und Syphilisserum erzielt, was aber eben durch die Beimischung von Lipoiden erklärt werden kann und nicht in Betracht kommt, nachdem, wie ich mich überzeugen konnte, nur vollkommene oder fast vollkommene Ablenkung bei Lepra (wohl auch bei anderen Krankheiten) verwertet werden darf und sichere Folgerungen zuläßt.

2. Die Reaktion Lepröser auf alte Lepraextrakte.

Wir besitzen eine Kollektion zahlreicher Präparate von Leprösen, und namentlich ganze Köpfe und Extremitäten, welche seit 10—25 Jahren in Alkohol liegen. Von einigen derselben entnahmen wir nun Leprome, welche fein verrieben, getrocknet und mittels Aether extrahiert wurden. Diese ätherischen Extrakte, sowie auch der Alkohol, in welchem die Leprapräparate jahrelang lagen, wurden nun daraufhin untersucht, ob dieselben mit Lepraserum ein komplementablenkendes System bilden können. Ein 25 Jahre altes Präparat enthielt keine oder nur wenige derartige Substanzen, während ein 10-jähriges Präparat (Gesichtshaut) einen Aetherextrakt lieferte, welcher schon in kleinsten Mengen mit Lepraserum das Komplement vollständig ablenkte. Wir haben zu gleicher Zeit und parallel mit diesem Antigen 1) frische Emulsion von Lepromen, 2) ein 2 Jahre lang konserviertes Leprom, 3) frischen Lepraextrakt 3 Monate nach seiner Bereitung, 4) den Alkohol, in welchem das 12 Jahre lang konservierte Leprom aufbewahrt wurde, 5) den Aetherextrakt normaler, von Fettgewebe befreiter Haut, 6) Aetherextrakt eines 10 Jahre in Alkohol gelegenen Herzens, 7) Antigen aus syphilitischer Leber eines Neugeborenen, 8) Aetherextrakt des Meerschweinchenherzens, 9) Aetherextrakt aus frischem Meerschweinchenherz verwendet.

Als Antikörper haben wir zunächst das Serum von tuberös und nervös Leprösen, von einem syphilitischen und einem gesunden Menschen verwendet. Die beifolgende Tabelle zeigt die Anordnung und die Resultate des Versuches, in dem wir der Einfachheit wegen die Titrierung der verschiedenen Substanzen in dieselbe nicht mit einbezogen haben.

Tabelle I.

	Aetherextrakt aus frischem Leprom	Derselbe nach 3 Monaten	Aetherextrakt aus einem 10 Jahre in Alkohol gelegenen Leprom	Der Alkohol d. Präparates	Aetherextrakt eines 10 Jahre in Alkohol konserviert. menschl. Herzens	Aetherextrakt eines frisch. Menschenherzens	Aetherextrakt eines Meer-schweinchenherzens	Aetherextrakt menschlich. von Fett befreiter Haut	Nervenlepraserum I	Knotenlepraserum II	Knotenlepraserum III	Knotenlepraserum IV	Knotenlepraserum V	Serum eines Syphilitischen	Normal. menschliches Ser. Komplement	Hämolyisin	Rote Blutkörperchen	Physiologische Lösung	Resultate
1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
7	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
9	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
11	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
12	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
13	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
14	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
15	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
16	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
17	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
18	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
19	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
20	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
21	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
22	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
23	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
24	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
25	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
26	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+
27	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	1	1	1	1,4	+

	Aetherextrakt aus frischem Leprom	Derselbe nach 3 Monaten	Aetherextrakt aus einem 10 Jahre lang in Alkohol gelegenen Leprom	Der Alkohol d. Präparates	Aetherextrakt eines 10 Jahre in Alkohol konserviert, menschl. Herzens	Aetherextrakt eines frisch. Menschenherzens	Aetherextrakt eines Meer-schweinchenherzens	Aetherextrakt menschlich. von Fett befreiter Haut	Nervenlepraserum I	Knotenlepraserum II	Knotenlepraserum III	Knotenlepraserum IV	Knotenlepraserum V	Serum eines Syphilitischen	Normal. menschliches Ser. Komplement	Hämolyse	Rote Blutkörperchen	Physiologische Lösung	Resultate
28	0,1	0,2	+
29	0,1	0,3	+
30	0,1	0,3	.	.	.	—
31	0,1	.	.	.	0,2	+
32	0,1	0,2	+
33	0,1	0,2	.	.	.	—
34	0,1	.	.	0,2	±
35	0,1	.	.	.	0,2	—
36	0,1	0,2	—
37	0,1	0,2	.	.	.	—

+ komplette Ablenkung, ± inkomplette Ablenkung, — komplette Hämolyse.

Es folgt demnach aus diesem Versuche sowie aus weiteren Versuchen, welche ich an noch 5 leprösen, 5 tuberkulösen, 5 syphilitischen Seren und 10 Seren gesunder Menschen angestellt hatte:

1) Daß der Aetherextrakt frischer Leprome in der Tat mit dem Serum aller Leprösen (mit Ausnahme eines Falles von wahrscheinlich geheilter Lepra) ein das Komplement ablenkendes System bildet.

2) Daß dieser Extrakt in der Regel mit Syphilisserum das Komplement nicht oder ganz wenig fixiert (eine unkomplette Ablenkung unter 6 Fällen).

3) Daß dieser Extrakt mit dem Serum von schwer Tuberkulösen kein komplementbildendes System bildet.

4) Daß dieser frische Extrakt, nach 3 Monaten, auf Eis gehalten, seine Fähigkeit, mit Lepraserum das Komplement zu binden, fast gänzlich eingebüßt hatte.

5) Daß der ätherische Extrakt 2—10 Jahre lang in Alkohol aufbewahrter Leprome mit Lepraserum ein ebenso wirksames komplementbildendes System bildet, wie der Extrakt frischer Leprome.

6) Der ätherische Extrakt der alten Leprome ist besser haltbar als jener frischer Leprome, indem derselbe nach Monaten noch seine Wirksamkeit bewahrt.

7) Der Alkohol, in welchem diese Präparate gelegen hatten, zeigt mit Lepraserum keine oder unbedeutende Komplementbindung.

8) Das Serum unserer Leprösen, sowie jenes von 6 Syphilitischen bildet mit dem ätherischen Extrakte eines 10 Jahre lang in Alkohol bewahrten menschlichen Herzens kein komplementablenkendes System.

9) Lepraserum und Syphilisserum bilden mit von Fett befreiter Haut kein komplementbindendes System.

Die Feststellung der Komplementablenkung mittels aus alten Lepromen gewonnenem Extrakt ist nicht ohne praktische Bedeutung, besonders nachdem wir nachgewiesen haben, daß frischer Lepraextrakt sich nicht gut hält, und da es schwierig ist, immer frische Lepraknoten zu erhalten.

Auch die Bacillen enthaltenden Sekrete Lepröser (Nasensekrete) sind gewöhnlich spärlich und können nicht ohne weiteres zur Bereitung von Antigen verwendet werden. Wir haben einmal eine größere Menge von Sekreten gesammelt und die Bacillen mittels Antiformin isoliert (die Acidoresistenz der Bacillen geht hierbei größtenteils verloren), gewaschen und dann einen Aetherextrakt aus denselben bereitet. Derselbe besaß ein schwächeres komplementbildendes Vermögen, so daß ich denselben nicht weiter verwendet hatte. Ueberhaupt gaben mir auch durch Antiformin behandelte ältere Leprome weniger gut verwendbare Extrakte.

Da in Alkohol gehärtete Leprapräparate sich überall finden und leicht beschafft werden können, so kann man ein solches Präparat zunächst auf seine bindende Kraft prüfen und dann für die Komplementbindung bei Lepra verwenden.

In der Tat haben unsere Versuche den diagnostischen Wert der Komplementbindung bei Lepra auch durch ausge dehnte Paralleluntersuchungen festgestellt, so daß derartige Prüfungen überall dort angezeigt sind, wo Verdacht auf Lepra besteht.

Namentlich in Ländern, wo Lepra selten ist, kommen Fälle vor, welche mit gewissen Lepraformen verwechselt

werden. Obwohl wir in mehreren Fällen von Syringomyelie, von Morvanischer Krankheit nachgewiesen haben, daß dieselben entschieden nicht lepröser Natur waren, gibt es doch derartige Fälle, bei welchen nicht ohne weiteres Lepra ausgeschlossen werden kann. Da bei denselben, sowie bei anderen verdächtigen Fällen von Raymondscher Krankheit, von Sklerodermie, von Idiotie, von verschiedenen trophoneurotischen Veränderungen, von Leukodermie etc., selbst wenn dieselben lepröser Natur sind, Bacillen gewöhnlich nicht gefunden werden, und auf der ersten Leprakonferenz kein Mittel bekannt war, um bei denselben die Diagnose sicherzustellen, da selbst im Beginn die Symptome öfters nicht eindeutig sind, und Anästhesie und Bacillen fehlen können, so ist es ersichtlich, daß hier die Methode der Komplementablenkung gute Dienste leisten kann, namentlich wenn wir immer über gut ausgeprüftes haltbares Antigen verfügen. Es ist demnach nicht ohne praktischen Wert, nachgewiesen zu haben, daß ein solches diagnostisches Mittel in alten Leprapräparaten vorhanden ist.

3. Die Wassermannsche Syphilisreaktion bei Lepra.

Wir haben in einer Reihe von Fällen nachgewiesen, daß die Lepra, besonders das Serum unserer an Lepra tuberosa Leidenden, mit Extrakt der Leber syphilitischer Neugeborenen eine komplette Ablenkung des Komplements ergibt. Auch unsere 2 Fälle von Lepra nervosa ergaben eine wenn auch unvollkommene Bindung. Diese Versuche wurden in einer Reihe von Paralleluntersuchungen wiederholt, von welchen ich eine hier mitteile.

Es wurde als Antigen oder als Ersatz desselben verwendet: 1) Aetherischer Extrakt von Tuberkelbacillen. Eine Massenkultur auf Glyzerinbouillon wurde getrocknet und mit Aether extrahiert. 2) Rohtuberkulin (Höchst). 3) Emulsion einer Massenkultur des Timotheusbacillus. 4) Aetherextrakt frischer Leprome und 5) Aetherextrakt alter in Alkohol konservierter Leprome. 6) Extrakt aus Chauymoograöl. 7) Aetherextrakt aus syphilitischer Leber. 8) Aetherextrakt aus normalem menschlichen Herzen. 9) Aus normalem Meerschweinchenherz.

Als Antikörper wurden in derselben Versuchsreihe verwendet: a) 2 normale menschliche Sera, b) 6 Sera von hochgradiger Tuberkulose (2 Kinder, 4 Erwachsene), c) Sera von 10 Leprösen (8 Fälle von tuberöser und gemischter Lepra, 2 Fälle von Nervenlepra, 1 Fall von geheilter Lepra (?), welcher seit Jahren keine neuen Manifestationen gezeigt hatte, ohne Bacillen in den diffusen sulzigen Infiltrationen oder in der Nase, d) syphilitische Sera.

Die Reaktion wurde vergleichend nach Wassermann und nach Hecht ausgeführt, letztere Methode gab gewöhnlich identische Resultate, doch war die Reaktion manchmal weniger komplett, die Resultate waren überhaupt weniger einförmig, wohl infolge der ungleichen hämolytischen Eigenschaften des Serums.

Ueberhaupt waren die ätherischen Extrakte wirksamer und gaben vollkommener Resultate als wässerige oder Alkohol-extrakte. Manche Sera wurden als autotrop befunden und behielten diese Eigenschaft bei Wiederholung der Versuche, namentlich fanden sich mehrere derartige tuberkulöse Sera.

In anderen Fällen, namentlich bei Lepra, wurden die Sera oft bald, nach Tagen oder Wochen, hämolytisch. Das tuberkulöse und lepröse Serum wurde vor der Behandlung der Kranken mittels Tuberkulin entnommen.

Aus beiliegender Tabelle ergibt sich in Betreff der Wechselwirkung von Lepra- und Syphilisserum, 1) daß unsere normalen Sera mit keinem der Antigene oder Ersatzstoffe derselben Komplement binden. 2) Die syphilitischen Antigene, sowie die Herzextrakte gaben mit dem Serum unserer 6 Tuberkulösen keine Komplementablenkung. 3) Unsere 8 tuberös Leprösen gaben alle mit den syphilitischen Antigenen und Ersatzstoffen, Meerschweinchenherz, Lecithin, komplette Ablenkung, während das Serum zweier nervös Leprösen, sowie des inaktiven Leprösen eine unkomplette, nicht charakteristische Ablenkung verursachte. 4) Das Serum 5 Syphilitischer verursacht keine Komplementablenkung, weder mit ätherischem Extrakt von Tuberkelbacillen, noch mit Tuberkulin, noch mit B.-Timotheus-Extrakt, noch mit ätherischem Extrakt frischer oder alter Leprome. Bloß ein Syphilitischer gab mit Aetherextrakt frischer Leprome eine unvollkommene, nicht charakteristische Reaktion.

5) Das Serum dieser 5 Syphilitischen gab mit dem gebräuchlichen Antigen sowie mit Menschen- und Meerschweinchenherz und mit Lecithin ebenso komplette Bindung wie das Lepraserum.

Seitdem haben wir mehrere Kontrolluntersuchungen vorgenommen, und in die Untersuchung noch Sera von 12 syphilitischen und von 20 normalen Menschen, ferner noch von 12 Tuberkulösen in die Versuchsreihe aufgenommen, so daß die Wirkung der einzelnen Substanzen durch eine große Reihe von Reaktionen anderer Systeme kontrolliert wurde, wobei die Resultate, namentlich was die Wirkung lepröser und syphilitischer Antigene und Antikörper betrifft, im wesentlichen die in der Tabelle angeführten blieben.

Schon Eitner hatte bei seinen Leprösen konstatiert, daß ein Alkoholextrakt von Meerschweinchenherz mit Lepraserum ein komplementablenkendes System bildet, und Meier zeigte, daß bei seinen Leprösen auch syphilitische Leber, normaler Leberextrakt und 1 Proz. Lecithin Kahlbaum ebenfalls Ablenkung hervorbringen. Auch die Lecithinausflockungsmethode gab Wechselmann und Meier bei Lepra positive Resultate.

Slatineanu und Danielopolu fanden ebenfalls, daß ein Teil ihrer Leprösen auf Lecithin positiv reagieren. Ich selbst konnte dieses Verhalten bestätigen, doch war aber bei Nervenlepra die Reaktion weniger komplett und beweisend als bei Knotenlepra und gemischter Lepra. Bei Knotenlepra ist die Komplementablenkung mit Lecithin gewöhnlich vollständiger als selbst bei Syphilis.

Meier behauptet, daß bloß seine an Knotenlepra Erkrankten auf Lecithin positiv reagierten, nicht aber die nervös Leprösen.

Dieser Unterschied in unseren Resultaten scheint mir nicht wesentlich zu sein, indem ja auch in meinen Versuchen Nervenlepra weniger komplett ablenkte. Der Mangel an Ablenkung bei den Versuchen Meiers kann wohl so erklärt werden, daß die Kranken Meiers reinere Nervenlepra hatten als meine, bei welchen ja versteckte oder beginnende Knötchen nicht ausgeschlossen werden konnten. Jedenfalls besteht im angegebenen Sinne ein gewisser Unterschied zwischen Knoten- und Nervenlepra. Meier fand, daß mittels glykocholsaurem

Natrium auch bei Lepra flockige Ausscheidung erfolgte, wohl weniger intensiv als bei Syphilis.

Die Cerebrospinalflüssigkeit Lepröser gab Meier hingegen in der Dosis von 0,4—0,1 keine positiven Resultate, weder mit syphilitischem Antigen noch mit Lecithin.

Slatineanu und Danielopolu, ohne die vorherigen Arbeiten zu kennen, kamen für die Cerebrospinalflüssigkeit Lepröser zu ähnlichen Resultaten.

Während wir selbst sowie Meier die Leprösen genau daraufhin untersucht haben, ob dieselben nicht zugleich syphilitisch sind, und zu gänzlich negativen Resultaten gelangt sind, indem sowohl bei unseren tuberösen Leprösen als auch bei den nervösen Fällen Syphilis ausgeschlossen werden konnte, und die Unterschiede in der Reaktion im wesentlichen darauf zurückgeführt werden könnten, daß die nervös Leprösen weniger deutlich reagierten, haben Slatineanu und Danielopolu versäumt, ihre Kranken auf Syphilis zu untersuchen, wenigstens ist in ihren Mitteilungen nichts dergleichen angegeben. Dieselben bemerken bloß, daß etwa die Hälfte ihrer Leprösen positiv reagiert hatten. Auch geben diese Autoren nicht an, ob ihre Leprösen tuberös oder nervös Lepröse waren, und welche der beiden Formen auf Lecithin reagiert hatte. Durch diese Mängel verlieren die Untersuchungen der beiden Autoren viel an Wert.

Wir können demnach behaupten, daß die Leprösen, namentlich die tuberös Leprösen, ohne syphilitisch zu sein, auf syphilitisches Antigen und dessen Ersatzstoffe ebenso reagieren wie syphilitisch Erkrankte; während umgekehrt das Serum von Syphilitikern auf lepröses Antigen in der Regel nicht, und nur ausnahmsweise durch unvollkommene Komplementablenkung reagieren.

Wir sind kaum in der Lage, auf die Frage nach der Ursache dieses sonderbaren Verhaltens Lepröser gegenüber syphilitischem Antigen und den Ersatzstoffen desselben einzugehen.

Besonders eigentümlich ist hierbei der Mangel an Reziprozität, indem syphilitisches Serum auf Lepraantigen nicht oder nur unbedeutend reagiert. Daß die Syphilisreaktion nicht streng spezifisch ist, haben nicht nur die positiven Resultate

bewiesen, welche Syphilisantigene mittelst des Serums bei verschiedenen Krankheiten geben, sondern die positive Komplementablenkung von Individuen, welche eine antirabische Behandlung durchgemacht haben, und bei welchen die Einverleibung größerer Mengen von Nervensubstanz eine Reaktion des Organismus hervorgerufen hat, infolge welcher das Serum derselben mit Lecithin und andern lipoiden Stoffen, namentlich Myelin, ein komplementablenkendes System bildet. Besonders aber die Komplementablenkung mittels letzterer Substanzen bei Syphilis zeigt, daß es sich auch bei dieser Krankheit um eine durch Bildung von Lecithin oder von ähnlichen Substanzen hervorgerufene Reaktion des Organismus handelt.

Was nun die Lepra betrifft, so muß man annehmen, daß bei dieser Krankheit ebenfalls lipoiden Substanzen auftreten, auf welche der Organismus ähnlich reagiert wie bei Syphilis. In der Tat konnte ich in Lepraknoten die Bildung derartiger Substanzen nachweisen ¹⁾, so daß die Ähnlichkeit der Reaktion wohl nicht so sehr auf einer Verwandtschaft der beiden Krankheiten als vielmehr auf die Bildung ähnlicher Substanzen, welche das Serum eigentümlich beeinflussen, beruhen kann.

Die geringe Ablenkung oder das Fehlen derselben mittels des Serums von Nervenlepra kann auf die geringe Menge von Leprabacillen und ihrer Produkte bei Nervenlepra zurückgeführt werden.

Daß die der Lepra offenbar mehr verwandte Tuberkulose auf syphilitische Antigene und lipoiden Substanzen nicht reagiert, erklärt sich aus dem Mangel oder der Geringfügigkeit der Bildung von gewissen Lipoiden unter dem Einflusse des Tuberkelbacillus.

Daß das Syphilisserum nicht auf Lepromextrakte positiv reagiert, ist scheinbar im Widerspruch mit dieser Auffassung, wenn wir aber näher zusehen, so finden wir, daß Lepromextrakte allerdings mit Syphilisserum nicht Komplement binden, daß aber Syphilisserum auch mit anderweitigen syphilitischen Produkten, etwa der Haut, mit Gummata oder primären Sklerosen oft keine Komplementbindung auslöst.

¹⁾ Babes, Der Leprabacillus und die Histologie der Lepra. Berlin, Karger, 1897.

Lepröse Leber, sowie überhaupt Lebersubstanzen, werden aber mit Syphilisserum unzweifelhaft Komplement ablenken.

Mit anderen Worten, weder Leprome noch Syphilome allein lösen mit Syphilisserum gewöhnlich die Reaktion aus; ebenso wie Syphilome allein auch mit Lepraserum keine Reaktion auslösen.

Die beiden Krankheiten verhalten sich demnach bloß Lipoiden gegenüber analog, während die spezifischen Stoffe der beiden Krankheiten sich für dieselben verschieden verhalten.

Wir müssen annehmen, daß die Lepra außer ihrer Empfindlichkeit lipoiden Stoffen gegenüber mit Syphilis nichts gemein hat, ferner daß die Lepra den Extrakten aus acidoresistenten Bacillen gegenüber spezifisch empfindlich ist, während die Syphilis, welche nicht durch acidoresistente Bacillen verursacht ist, auf dieselben und deren Extrakte nicht reagiert.

4. Die Reaktion der Leprösen auf Tuberkuloseantigene und das wechselseitige Verhältniß der beiden Krankheiten.

Wir haben nachgewiesen, daß die Leprösen als solche auf Tuberkulin reagieren, daß aber die Reaktion bei Leprösen anders verläuft als bei Tuberkulösen. Dieser verschiedene Verlauf darf aber nicht einfach aus einer geringeren Empfindlichkeit der Leprösen auf Tuberkulin erklärt werden, wie dies manche Autoren annehmen. Im Gegenteil gibt es Lepröse, welche auf äußerst geringe Dosen von Tuberkulin viel heftiger reagieren als Tuberkulöse, indem bei Leprösen die Reaktion auch längere Zeit andauert.

Es war deshalb anzunehmen, daß Lepröse auch anderen Anwendungsweisen des Tuberkulins gegenüber sich empfindlich erweisen würden. Wir haben in der Tat gesehen, daß viele Lepröse auch die Ophthalmoreaktion geben, während die Pirquetsche Reaktion oft bei Leprösen nicht eintritt.

Auch das Tuberkulin als Antigen gibt mit Lepraserum etwa in der Hälfte der Fälle Komplementablenkung. Diese Reaktion bestärkte Slatineanu und Danielopolu in ihrem Fehler, indem sie dieselbe als weiteren Beweis für ihre Auffassung betrachten, daß die Leprösen nur dann auf Tuberkulin reagieren, wenn dieselben zu gleicher Zeit tuberkulös sind.

Nun hatten aber diese Autoren versäumt nachzusehen, ob denn die Tuberkulösen selbst auf Tuberkulin reagieren.

Zur Zeit ihrer Mitteilung war schon durch Wassermann und Bruck¹⁾, Lüdke²⁾ u. a. festgestellt worden, daß Tuberkulöse gewöhnlich auf Tuberkulin in dieser Weise nicht reagieren und daß man, um mittels Tuberkulin bei Tuberkulösen Komplementablenkung zu erzielen, letztere mit großen Dosen von Tuberkulineinspritzungen vorbehandelt werden müssen.

Allerdings haben vorher einige französische Autoren, wie Widal und Le Sourd³⁾, Comus und Pagniez⁴⁾ etc. zunächst geglaubt, die Komplementablenkung bei Tuberkulose für diagnostische Zwecke verwenden zu können, doch ist man allgemein von dieser Meinung zurückgekommen, nachdem besonders die erwähnten Autoren, sowie Bezançon und Serbonnes⁵⁾ die negativen Resultate Wassermanns bestätigen konnten.

Bezançon und Philibert⁶⁾ behaupteten zunächst, daß man die Probe für Tuberkulose mit gewissen Kautelen ausführen müsse, daß die Blutkörperchen nicht verdünnt werden dürfen und daß man das Blut der Tuberkulösen des Morgens, vor der Mahlzeit entnehmen müsse. Aber trotz dieser Maßregeln überzeugten sich diese Autoren, daß die Seroreaktion bei Tuberkulose mittels Tuberkulin sehr unbeständige und diagnostisch nicht verwertbare Resultate gibt, indem ein großer Teil der Tuberkulösen keine Ablenkung erkennen läßt. Selbst bei denselben Kranken ist die Reaktion bald positiv, bald negativ, und bei den meisten Tuberkulösen kann man mittels Tuberkulin überhaupt keine Ablenkung erzielen.

Endlich konstatierten Weil und Nakayama, daß das Tuberkulin die Ablenkung verhindernde Substanzen enthält, und haben deshalb Bezançon und Philibert Tuberkelbacillenemulsionen und nicht Tuberkulin für diese Reaktion verwendet. Aber auch mittels dieses Antigens gab etwa $\frac{1}{3}$ der Tuberkulösen negative Reaktion, so daß sich diese Autoren gegen den diagnostischen Wert der Reaktion aussprachen.

Die Kontrolluntersuchungen der Wassermannschen Resultate durch M. Wolff und Mühsam⁷⁾ bestätigten zum Teil die Untersuchungen Wassermanns. Wolff-Mühsam verwendeten kleine Dosen von Antigen und Antikörpern (weniger als die Hälfte der gerade noch bindenden Dosis), um eine Vertuschung der Reaktion auszuschließen. Im ganzen fanden die Autoren unter 109 Fällen 46mal Komplementbindung, die Fälle von schwacher (unkompletter) Bindung will ich hier nicht anführen, da

1) Wassermann und Bruck, Deutsche mediz. Wochenschr., 1906, p. 448.

2) Lüdke, Münch. mediz. Wochenschr., 1908, No. 15 u. 16.

3) Widal et Le Sourd, Soc. méd. des hôpitaux, 6. Juli 1901.

4) Comus et Pagniez, Compt. rend. Soc. Biol., 6. Juli 1901.

5) Bezançon et Serbonnes, Compt. rend. Soc. Biol., Nov. 1909.

6) Bezançon et Philibert, Journ. méd. franç., 15. Jan. 1910.

7) Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 35.

derartige unkomplette Bindungen nicht als charakteristisch angesehen werden können.

Interessant ist für unsere Ausführungen die Vergleichung von Komplementbindung und subkutaner Tuberkulininjektion.

Von 29 probatorisch injizierten hatten 27 positives Resultat. Mittels Komplementablenkung fand sich eben nur in 8 Fällen komplette Bindung. 2 Fälle von sicherer Tuberkulose reagierten selbst auf Gaben von 10 mg nicht, gaben aber Komplementablenkung, einer derselben nur schwache, obwohl derselbe eine Tuberkulinkur durchgemacht hatte. Der Autor kommt zu dem Resultate, daß ein Parallelismus zwischen Komplementbindung und kutaner oder subkutaner Tuberkulinempfindlichkeit nicht besteht. Sigm. Cohn¹⁾ kommt zu ähnlichen Schlüssen, indem aber bei den von ihm untersuchten 14 Seris Tuberkulöser des ersten Stadiums kein einziges Komplementablenkung zeigte (also antituberkulinhaltig war). Selbst im zweiten und dritten Stadium fanden sich unter 53 Fällen bloß 15 mit positivem Resultat. Auch Foà und Koch²⁾ fanden, daß bei ihren 27 nicht spezifisch behandelten tuberkulösen Kindern niemals Komplementbindung, von 41 behandelten Fällen eine solche nur 14mal aufgetreten war.

Von den Autoren, welche sich in letzter Zeit mit dieser Frage beschäftigt haben, will ich noch Frugone³⁾ erwähnen, welcher bei 71 Proz. der Tuberkulösen Komplementablenkung gefunden haben will. Auch hatten von 10 Leprösen, die sicher tuberkulosefrei waren, 8 positiv reagiert. Lüdke⁴⁾ fand bei nicht mit Tuberkulin behandelten Tuberkulösen fast bloß negative Resultate, und unter 31 längere Zeit spezifisch behandelten 17 positive. Engel und Bauer⁵⁾ fanden bei tuberkulösen Säuglingen immer negative Serumreaktion mittels Tuberkulin, welche sich aber bei Behandlung mit großen Tuberkulindosen (2,5—20,0 ccm) in positive umwandelte. In der Tat fand auch Bauer⁶⁾, daß nach Einspritzung großer Dosen von Tuberkulin die Reaktion positiv wurde, nach Aussetzen der Behandlung wieder negativ.

In den Versuchen Szabokys war im Gegenteil nach Tuberkulinbehandlung der Antituberkulingehalt des Blutes nicht gestiegen und blieb demnach die Reaktion der Komplementablenkung negativ. Szaboky erwähnt noch, daß auch das normale Blutserum von Kaninchen mit Tuberkulin Komplementablenkung gibt, obwohl im normalen Blut wohl kein Antituberkulin vorhanden ist. Auch Laub und Novotný⁷⁾ konstatieren, daß auch bei nicht Tuberkulösen öfters Komplementablenkung mit Tuberkulin beobachtet werden kann, während dieselbe bei Tuberkulösen oft fehlt.

1) Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 28.

2) Beitrag zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 14, 1909, p. 78.

3) Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 38.

4) Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 13 u. 16.

5) Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 44.

6) Deutsche med. Wochenschr., 1908, No. 42.

7) Laub und Novotný, Wiener klin. Wochenschr., 1909, No. 3.

Pekanovich¹⁾ fand mittels der Berbachschen Modifikation des Wassermann-Bruckschen Verfahrens (0,1 ccm Serum + 0,1, 0,05, 0,02 ccm Tuberkulin-Komplement, dann 6 Stunden lang im Thermostaten + Komplement, hämolytisches System + 24 Stunden im Thermostaten bei 37°) unter 20 Fällen von Tuberkulose in keinem Falle ausgesprochene Komplementbindung. Michaelis findet namentlich bei wenig fortgeschrittenen Tuberkulösen gewöhnlich keine Komplementablenkung, bloß bei Schwerkranken oder bei Anwendung großer Tuberkulindosen, namentlich auch bei Verwendung von Tuberkelbacillenextrakten statt Tuberkulin erhält man bessere Resultate²⁾. Sobernheim³⁾ findet bei tuberkulösen Menschen, sowie bei mit Tuberkulin behandelten Tieren keine Komplementablenkung, nur das Serum vorbehandelter Pferde, welches zunächst mit Tuberkulin kein Komplement bindet, kann nach Monaten komplementbindende Substanzen entwickeln.

Aus diesen und anderen zahlreichen Untersuchungen ergibt sich, daß die Tuberkulösen nicht oder nur unregelmäßig auf Tuberkulin als Antigen reagieren. Aus den meisten neueren Mitteilungen geht in der Tat hervor, daß die Reaktion mittels Tuberkulin immer oder fast immer negativ war (Wassermann und Bruck, Lüdke, Bezançon und Serbonne, Engel und Bauer, Sigm. Cohn, Foà und Koch, Pekanovich, Kuerter, R. Koch, Michaelis, Sobernheim etc.) mit Ausnahme von Fällen, in welchen die Tuberkulösen mit großen Dosen Tuberkulin behandelt worden waren, in welchen Fällen nach mehreren Autoren dasselbe mit Tuberkulin das Komplement zu binden vermögen, während nach anderen selbst in diesen Fällen nur eine geringe Anzahl von Tuberkulösen positiv reagieren.

Interessant, wenn auch nicht für unsere Zwecke verwertbar, sind die Resultate Sobernheims, welcher fand, daß in der Regel das Blutserum Tuberkulöser sowie jenes tuberkulinisierter Tiere mit Tuberkulin kein komplementbindendes System bildet, daß aber das Serum gewisser vorbehandelter Tiere nach monatelanger Konservierung die Eigenschaft erlangt, mit Tuberkulin das Komplement zu fixieren.

Nur ganz wenige Autoren fanden bei ihren nicht tuberkulinisierten Tuberkulösen eine größere Anzahl von positiv

1) Pekanovich, Med. Woche, 1910, No. 4, p. 162.

2) Michaelis, Kongr. f. inn. Medizin, Wiesbaden, 18.—21. April 1910.

3) Sobernheim, Ueber Tuberkuloseantikörper. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Bd. 5, 1910, Heft 4.

reagierenden. Beweise für die Annahme Wassermanns, daß die positive Reaktion einem Antituberkulingehalt des Blutes entspreche, wurden in den zahlreichen Kontrolluntersuchungen namentlich Wolff-Eisners nicht gefunden, so daß es sich wohl noch um andere, kompliziertere Verhältnisse handeln dürfte. Allerdings ist nach unseren Untersuchungen auch die Annahme der Gegenwart von Antituberkulin im Blute als Ursache der positiven Reaktion in vielen Fällen nicht auszuschließen, doch kommen für den Ausfall der Reaktion noch andere, zum Teil unbekannte Umstände in Betracht, welche die Reaktion trotz Antituberkulingehaltes des Blutes vereiteln können. Endlich wollen wir hier nochmals betonen, daß es uns hier nicht darauf ankommt, Antikörper im Blute von Tuberkulösen zu suchen, sondern festzustellen, inwiefern das Serum von tuberkulösen Menschen mit jenen Lepröser in bezug ihres Verhaltens zu Tuberkulin vergleichbar ist.

5. Serum Tuberkulöser und Aetherextrakt von Tuberkelbacillen.

Während demnach die Reaktion des Serums Tuberkulöser auf Tuberkulin gewöhnlich negativ ausfällt, wie dies aus beiliegenden Tabellen ebenfalls ersichtlich ist, finden wir, daß die Reaktion des Blutes Tuberkulöser mit ätherischem Extrakt von Tuberkelbacillen in der Regel positiv ausfällt. Es ist demnach geraten, diese Reaktion auf ihren diagnostischen Wert bei Tuberkulose noch näher zu prüfen.

Der ätherische Extrakt verursacht, in ähnlicher Weise verwendet wie Nastin, auch nach Injektion bei Tuberkulösen eine der Tuberkulinreaktion ähnliche, doch schwächere Wirkung.

Wir haben beide Methoden auch bei Lepra geprüft und sind zu den in Tabelle II (p. 612) dargestellten Resultaten gekommen.

Serum Lepröser und Tuberkulin. Während Tuberkulin in der großen Mehrzahl der Fälle keine Reaktion mit dem Serum Tuberkulöser auslöst, erzeugt lepröses Serum mit Tuberkulin in der Regel Komplementbindung.

Tabelle II.

	Serum	1 : 100— 1 : 50 Tuber- kulin	Lepra- knoten- Emulsion	Aether- extrakt der Tuberkel- bacillen	0,1 Aetherextr. frischer Leprome	in Al- kohol kons.	Bemerkungen
1. Lepra tuber.	0,3—0,6	0,3 +	0,2 +	0,1 +	+	+	
2. " "	0,6	0,4 +	0,2 ±	0,1 +	+	+	
3. " "	0,4—0,6	0,2 +	0,2 +	0,1 +	+	+	Frauen
4. " "	0,4	0,4 +	0,1 +	0,1 +	+	+	
5. " "	0,05—0,4	0,3 +	0,1 +	0,1 +	+	+	
6. " "	0,05—0,2	0,2 +	0,1 +	0,1 +	+	+	
7. " "	0,06—0,6	0,3 +	0,1 ±	0,1 +	+	+	gemisch. Form, Frau
8. Lepra nerv.	0,05—0,4	0,8 ±	0,1 +	0	+	+	
9. " "	0,4	0,4 —	0,1 +	0,1 +	+	+	
10. Inaktive (ge- heilte?) Lepra	0,4	0,3 —	0,2 —	0,1 —	±	+	keine Bacillen, keine frischen Eruptionen
11. Tuberkulose	0,05—0,3	0,3—0,4 —		autotrop			
12. " "	0,4	0,3 —	0	0,08 +	±	±	frische leichtere Fälle
13. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 +	0	0	
14. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 +	—	±	
15. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 —	—	—	
16. " "	0,3	0,3 —	0	0,04—0,1 +	0	0	schwere Fälle
17. " "	0,3	0,3 —	0,2 —	0,04 +	—	—	
18. " "	0,3	0,3 —	0	0,04 +	0	0	
19. " "	0,4	0,3 ±	0	0,2 +	0	0	
20. " "	0,4	0,3 +	0	0,2 +	0	0	nach Tuberkulin- behandlung
21. " "	0,4	0,3 —	0,2 —	0,2 +	0	0	schwere Fälle
22. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 +	0	0	
23. " "	0,4	0,3 —	0,2 —	0,1 —	0	0	
24. " "	0,4	0,3 —		autotrop			
25. " "	0,4	0,3 —	0,2 —	0,1 ±	0	0	Kinder
25. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 +	0	0	
27. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 +	0	0	
28. " "	0,4	0,3 ±	—	0,1 +	0	0	
29. " "	0,4	0,3 —	0	0,1 +	0	0	schwere Fälle
30. Tuberkulose mit Syphilis	0,4			autotrop			
31—32. dgl.	0,4	0,3—0,4 —	0	0,1 +	0	0	wenig Tuberkulose, Wassermann positiv
33—38. Serum Syphilitischer	0,4	0,3 —	{ — — — ± ± —	0,1 —	0	0	Wassermann positiv
39—42. Normales Serum	0,4	0,3 —	—	0,1 —	0	0	

Frugoni fand bei 8 von 10 Leprösen, welche sicher nicht an Tuberkulose litten, eine positive Reaktion, Slatineanu und Danielopolu beobachteten ähnliches. A. Meyer

fand positive Reaktion bei allen seinen tuberös Leprösen, nicht aber bei Nervenlepra, während wir selbst auch bei Nervenlepra gewöhnlich komplette Ablenkung, in einem Fall allerdings unkomplette Reaktion beobachten konnten.

Nachdem demnach diese Reaktion bei Tuberkulösen in der Regel negativ ausfällt, bei Lepra hingegen positiv, ist es klar, daß sich Slatineanu und Danielopolu getäuscht haben, wenn sie behaupten, daß die positive Serum-Tuberkulin-Reaktion bei Lepra beweist, daß die Leprösen, welche Ablenkung zeigen, zugleich tuberkulös sind. Im Gegenteil könnte man behaupten, daß, indem die Tuberkulösen in der Regel keine oder unkomplette Komplementablenkung mit Tuberkulin geben, der positive Ausfall der Reaktion bei fast allen Leprösen beweist, daß diese Reaktion nicht für Tuberkulose, wohl aber für Lepra charakteristisch ist.

Jedenfalls war es ein Fehler, anzunehmen, daß nur Lepröse, welche zugleich tuberkulös sind, eine Komplementablenkung mit Tuberkulin geben.

Die erwähnten Autoren behaupten nun noch, daß der Beweis für letztere Behauptung auch dadurch erbracht wurde, daß sie nachgewiesen haben, daß dieselben Leprösen, welche durch Komplementablenkung reagiert hatten, auch die Kochsche Probe und die Ophthamoreaktion geben. Hierauf ist aber zu erwidern, daß diese ihre Behauptung im Gegensatz zu den Resultaten aller übrigen Forscher steht, indem, wie wir gezeigt haben, kein Parallelismus zwischen Kochscher Probe und Komplementablenkung besteht.

So reagieren z. B. alle Tuberkulösen auf die Kochsche Probe, während dieselben Tuberkulösen in der Regel mit Tuberkulin das Komplement nicht ablenken, wie wir dies in zahlreichen Fällen nachweisen konnten.

Wenn demnach bei Leprösen diese beiden Reaktionen positiv ausfallen, ist dies ein Beweis, daß es sich nicht um die Reaktion der Tuberkulose, sondern um eine für Lepra eigentümliche Reaktion handelt. Aus unseren Tabellen geht in der Tat hervor, daß von 20 Tuberkulösen bei 19 positive Kochsche Reaktion, aber bloß zweimal schwache Ablenkung mittels Tuberkulin hervorgerufen werden konnte, während

40*

bei unseren 11 Leprösen 9mal positive Tuberkulinreaktion und 9mal vollständige Ablenkung mittels Tuberkulin erzielt wurde.

Nach Wassermann müßte man annehmen, daß die regelmäßige Komplementablenkung bei Lepra das Vorhandensein von Antituberkulin im Blute Lepröser bedeutet. Die Leprösen würden sich also etwa so verhalten wie Tuberkulöse, welche mit großen Dosen von Tuberkulin behandelt wurden. Allerdings konnte ich in einem Falle aus leprösen Organen mittels Glyzerin eine Substanz gewinnen, welche sich dem Tuberkulin ähnlich verhielt, so daß angenommen werden darf, daß Lepröse auch Tuberkulin oder eine ähnliche Substanz „Leprin“ enthalten können. In anderen Fällen allerdings habe ich aber keine derartige Substanz aus leprösen Organen gewonnen, so daß wir behaupten können, daß sich derartige Substanzen nur ausnahmsweise aus Lepraorganen oder aus Leprabacillen gewinnen lassen.

Die Lepra ist eine viel langsamer verlaufende Krankheit als die Tuberkulose, eine, bei der sich die Kranken trotz der Anwesenheit ungeheurer Mengen von acidoresistenten Bacillen lange Zeit eines guten Allgemeinbefindens erfreuen, so daß die Annahme von reichlichen Mengen von Antituberkulin im Blute bei Leprösen von vornherein nicht unwahrscheinlich erscheint. In der Tat könnte man behaupten, daß bei einer so großen Menge von Bacillen fortwährend durch den Tod und durch die Resorption von Anteilen des Leprabacillus tuberkulinartige Massen auftreten, welche ihrerseits die Bildung von Antituberkulin ebenso zur Folge haben können wie bei den reichlich mit Tuberkulin behandelten Tuberkulösen. Man könnte ferner sagen, daß die Leprösen sich eben deshalb relativ wohl befinden, weil der fortwährende Zerfall von Bacillen durch die im Blute vorhandenen großen Antituberkulinmengen paralytisch wird, daß sich also die Leprösen etwa so verhalten wie tuberkulinisierte Tuberkulöse, welche ja ebenfalls oft mit Tuberkulin Komplementablenkung zeigen.

Diese Annahme ist in der Tat recht verlockend, leider haben aber die Untersuchungen von Wolff-Eisner und Mühsam sowie von anderen die Beweise der Wassermann-Bruckschen Auffassung erschüttert und gezeigt, daß die

positive Reaktion nicht mit der Anwesenheit von Antituberkulin im Blute parallel geht, so daß wir versuchen wollen, für das Verhalten der Leprösen noch weitere Anhaltspunkte zu gewinnen.

Vielleicht gibt uns hierfür das Verhalten Lepröser gegenüber Aetherextrakten von Tuberkelbacillen nähere Aufschlüsse.

6. Aetherischer Tuberkelbacillenextrakt und Lepraserum, Ophthalmoreaktion mit Aetherextrakt.

Wir haben gesehen, daß das Serum Tuberkulöser frischem ätherischen Tuberkelbacillenextrakt gegenüber viel empfindlicher ist als gegen Tuberkulin. Da diesem Extrakt gegenüber auch Lepröse sehr empfindlich sind, indem diese Extrakte ebenso wie das Nastin (Aetherextrakt einer acidoresistenten Streptothriche) nicht nur durch Injektion eine heftige toxische und fieberhafte Reaktion bei Leprösen auslösen, sondern auch regelmäßig mit Lepraserum eine komplette Komplementablenkung geben.

Tabelle III.

	Serum	1 : 50 Tuber- kulin	Aetherex- trakt der Tuberkel- bacillen	Aetherex- trakt alter Lepröme	Emulsion aus B.- Timo- theuskult.	Aetherex- trakt aus Timo- theuskult.
1.)	0,4	0,4 —	0,2 +	0,1 —	0,4 —	0,2 +
2.)	0,4	0,4 —	0,1 ±	0,1 —	0,4 —	0,2 +
3.)	0,4	0,4 —	0,2 ±	0,1 —	0,6 —	0,2 +
4.)	0,4	0,4 —	0,1 —	0,1 —	0,6 —	0,1 ±
5.)	0,4	0,4 —	0,2 +	0,1 —	0,4 —	0,1 ±
6.)	0,4	0,4 ∓	0,2 ±	0,1 —	0,4 ∓	0,1 ±
7.)	0,4	0,3 —	0,1 ±	0,1 —	0,6 —	0,1 ±
		0,4 ±				
8.)	0,4	0,4 ±	0,1 ±	0,1 —	0,4 —	0,1 +
9.)	0,4	0,2 —	0,2 —	0,1 —	0,4 ∓	0,1 ±
		0,4 ∓				
10.)	0,4	0,4 ±	0,1 +	0,1 —	0,4 ±	0,2 +
11.)	0,4	0,4 ±	0,1 +	0,1 —	0,4 —	0,1 +
12.)	0,4	0,4 ±	0,1 +	0,1 —	0,4 —	0,1 +
13.)	0,4	0,4 ∓	0,1 +	0,1 —	0,4 ∓	0,1 +
14.)	0,4	0,4 ∓	0,1 ±	0,1 —	0,4 ±	0,1 +
15.)	0,4	0,2 —	0,1 —	0,1 —	0,4 —	0,1 —
		0,4 —				
16.)	0,4	0,4 —	0,1 —	0,1 —	0,4 —	0,1 —

Diesem Extrakt gegenüber verhalten sich demnach Lepröse und Tuberkulöse ziemlich gleichartig, bloß ist die Giftwirkung des Extraktes bei subkutaner Anwendung bei Tuberkulose geringer als bei Lepra.

Der Aetherextrakt von Tuberkelbacillen ist bekanntlich giftig und erzeugt bei Tieren ganz andere Veränderungen als das Tuberkulin.

Reiner Extrakt aus durch Waschen von anderen Stoffwechselprodukten befreiten Bacillen erzeugt bloß Marasmus, während ein Alkoholätherextrakt aus Kulturen nach Hammer-schlag ein krampferzeugendes Toxin darstellt, indem die Versuchstiere unter Krämpfen zugrunde gehen.

Der ätherische Extrakt enthält im wesentlichen eine ölartige Substanz, welche äußerst reizend wirkt. Wir fragen uns bloß, ob es sich um die Wirkung eines reinen Oels handelt, wie dies Deycke und Much voraussetzen¹⁾, oder ob es sich nicht um äußerst geringe Mengen eines in Aether und Oel löslichen Toxins handelt, welches vermöge seines geringen Volums nicht isoliert werden kann, ebenso wie dies etwa für das Tetanusgift angenommen werden muß. Ohne auf diese Frage näher einzugehen, können wir behaupten, daß dieses spezifisch giftige Oel ganz anders zusammengesetzt ist als das Tuberkulin. Letzteres enthält wohl auch geringere Mengen dieses Oels, nebstbei aber noch verschiedene andere Bestandteile der Kulturen und der Kulturflüssigkeit des Tuberkelbacillus. Während das Oel aus verschiedenen acidoresistenten Mikroorganismen ausgezogen werden kann und bei verschiedenen, durch acidoresistente Bakterien erzeugten Krankheiten ziemlich gleichartig wirkt, müssen wir annehmen, daß das Tuberkulin bei verschiedenen, durch Acidoresistente verursachten Krankheiten verschieden, also mehr spezifisch wirkt.

Bevor wir dieses Kapitel schließen, wollen wir noch betonen, daß unsere negativen Befunde bei Tuberkulose mittels Tuberkulin sowie mittels Aetherextrakts als Antigen immer durch gleichzeitige Untersuchung mittels derselben tuberkulösen Sera und einer Reihe von anderen Antigenen kontrolliert wurden. Wir haben namentlich immer gleichzeitig

1) Deycke und Much, Leprakonferenz, Bergen 1909, Bd. 3.

das tuberkulöse Serum auf Lepraantigen und das Lepraserum auf Tuberkulin geprüft, so daß wir immer feststellen können, daß dieselbe Menge von Lepraserum mit derselben kleinsten Menge von Tuberkulin vollständige Komplementablenkung gab, welche mit derselben Menge von Tuberkuloseserum vollständige oder fast vollständige Hämolyse ergab.

Die Versuche jener Autoren, welche nicht parallel mit Tuberkulose- und Lepraserum gearbeitet hatten, kommen für diese Untersuchungen nicht in Betracht, nachdem es mir nicht darauf ankam, durch Modifikation des Verfahrens dennoch auch bei Tuberkulose eine, wenn auch unvollkommene Reaktion zu erzielen (Wolff-Eisner-Mühsam, Bezançon etc.), sondern indem ich jene Versuchsanordnung verwendete, welche bei gleichen Mengen mit Lepraserum gerade noch vollständige Komplementablenkung, mit Tuberkulose aber vollständige Hämolyse ergab. Allein diese Versuchsanordnung ist demonstrativ, denn sie beweist, daß das Verhalten der Lepra von jenem der Tuberkulose dieser Substanz gegenüber gänzlich verschieden ist. Ich kann demnach behaupten, daß bei dieser Versuchsanordnung das Tuberkulin bei Tuberkulose in der Regel negative, bei Lepra positive Resultate ergibt.

Die Autoren, welche ähnlich vorgegangen waren, kamen übrigens auch, ohne mit Lepra parallel gearbeitet zu haben, zu ähnlichen Resultaten. Dies ist selbstverständlich die Bedeutung unserer Behauptung, daß die Lepra mit Tuberkulin als Antigen positiv reagiert, die Tuberkulose dagegen negativ.

Allerdings hat sich in eine Mitteilung¹⁾ ein Fehler eingeschlichen, welcher aber berichtigt wurde, indem dort angegeben ist, daß auch ätherischer Tuberkelbacillenextrakt mit Tuberkuloseserum eine negative Reaktion gebe. Diese Reaktion fällt, wie wir gesehen und schon vor der erwähnten Publikation betont haben, in der Regel positiv aus.

Nastin-Lepra. Was wir über den ätherischen Extrakt von Tuberkelbacillen gesagt haben, gilt auch für das Nastin. Deycke selbst hatte festgestellt, daß diese Substanz, welche bekanntlich einen Aetherextrakt einer bei Lepra gefundenen

1) Babes-Busila, Soc. de Biol., Bd. 68, 1909, p. 181.

acidoresistenten Streptothriche (Streptothrix leproides) darstellt, mit einem Aetherextrakt aus Tuberkelbacillen identisch ist, was auch aus meinen Untersuchungen hervorgeht. Muchs und Meyers Untersuchungen zeigen ferner, daß Lepraserum mit Nastin ein komplementablenkendes System bildet, etwa so wie ich dies für ätherischen Tuberkelbacillenextrakt gezeigt habe.

Auch diese Resultate zeigen, daß der Aetherextrakt weniger spezifisch ist und mehr Gruppenreaktionen auslöst als das Tuberkulin. Leider konnten wir trotz unserem wiederholten Ersuchen keinen reinen Extrakt des Deyckeschen acidoresistenten Pilzes erhalten, so daß wir mit dem fertigen Nastin arbeiten mußten, welche Substanz eben für derartige Versuche ungeeignet ist.

Timotheusbacillus-Lepra. Eine Emulsion dieses wenig pathogenen Bacillus wirkt schwach komplementablenkend bei Lepra, weniger noch bei Tuberkulose, während er mit Lepraserum kein System bildet, oder nur ganz unbedeutend ablenkt. Aetherischer Extrakt des Bacillus verhält sich hingegen ähnlich wie jener des Tuberkelbacillus, indem er mit Lepraserum ein System bildet, welches fast ebenso vollständig ablenkt wie der Tuberkelbacillusextrakt. Wie Tabelle III zeigt, wurden auch 14 Tuberkulöse mit diesem Extrakte geprüft und zeigten alle Komplementablenkung und 10 namentlich vollständige Fixierung.

7. Aus Lepraknoten isolierte Diphtherideen und andere mit Lepra in irgendwelcher Beziehung stehende Substanzen und Lepra.

Spronck hat gezeigt, daß die bei Leprösen von mir gefundenen Diphtherideen durch Lepraserum agglutiniert werden können, welche Reaktion dieser Autor für die spezifische Natur dieser Bacillen verwerten will, während ich dieses Phänomen auch so erklären zu können glaube, daß die Diphtherideen, welche bei Leprösen in allen Organen verbreitet sind und den leprösen Organismus und das Serum jedenfalls beeinflussen, auch Agglutinine erzeugen können, ohne deshalb den leprösen Prozeß zu verursachen. Jedenfalls ist es nach

meinen Untersuchungen wahrscheinlich, daß diese Diphtherideen nichts mit dem Leprabacillus gemein haben, wie dies mehrere Autoren vermuten. In der Tat bildet eine Emulsion dieser Bacillen mit Leprabacillen kein oder nur ein schwaches komplementablenkendes System. Zwei lepröse Sera ergaben mit dem ätherischen Extrakt der Kulturen allerdings deutliche Komplementablenkung. Dieselben zwei leprösen Sera ergaben negative Resultate mit verschiedenen anderen Substanzen, welche bei Lepra als Antigen versucht wurden. Natürlich wurden bloß Substanzen untersucht, welche auf den leprösen Prozeß eine gewisse Wirkung ausüben, so das Chaulmoograöl. Ein Extrakt desselben bildet mit Lepraserum kein komplementbindendes System, ebensowenig jahrelang in Spiritus konservierte nicht lepröse Organe, namentlich Leber und Herz des Menschen.

8. Parallelversuche über das wechselseitige Verhalten der verschiedenen Antikörper und Antigene.

Wir haben die Resultate unserer vergleichenden Versuche, welche zu gleicher Zeit mit allen erwähnten Antikörpern, Antigenen und als solche wirkenden Substanzen angestellt wurden, zusammengestellt. Diese Versuche wurden dann mit wenigen Abänderungen noch mehrmals wiederholt, so daß unsere Resultate, was das Verhältnis der verschiedenen Antigene zu Antikörpern betrifft, durch sehr zahlreiche Kontrollversuche festgestellt und kontrolliert wurden. Nur auf diese Weise konnten wir das wesentlich verschiedene Verhalten von Antigenen und Antikörpern auch für solche Körper nachweisen, welche in Einzelversuchen und infolge individueller Schwankungen bei früheren Versuchen keine bestimmte Deutung zuließen. In der Tat sind, wie wir gesehen haben, die Resultate verschiedener Forscher in dieser Beziehung weit auseinandergehend. Nur durch derartige Paralleluntersuchungen, bei welchen etwa 30 austitrierte Antikörper mit etwa 10 ebenfalls sorgfältig geprüften Antigenen zusammengebracht werden, wurden unsere Resultate gut vergleichbar und verwertbar. Nur auf diese Weise kann man

die Nuancen der Komplementbindung und die individuellen Schwankungen und im allgemeinen die für eine gewisse Erkrankung oder für ein gewisses Antigen gültigen Reaktionen unterscheiden. So sehen wir, daß sich in einem Kontrollversuche 10 lepröse, 20 tuberkulöse, 15 normale und 15 syphilitische Sera so verhalten, daß die einzelnen Krankheitsformen scharf umschriebene Gruppen bilden, welche als solche durch die entsprechenden Reaktionen sicher diagnostiziert werden können.

9. Leproide Krankheit der Ratten und Lepra.

Bei einer ziemlich seltenen lepraähnlichen Krankheit der Ratten, welche zuerst von Stefansky, dann von verschiedenen anderen Forschern beschrieben wurde und bei welcher in der Tat Bacillen gefunden wurden, welche ich kaum von Leprabacillen unterscheiden konnte und welche sich im Gewebe genau wie die von mir festgestellte, mehr diffuse Infiltration der Haut bei Lepra darstellen, fanden sich Bacillen im Gewebe und in den Zellen, die sich morphologisch so darstellen und ebenso angeordnet sind wie die Leprabacillen.

Dieselben sind nicht züchtbar und auch in der Regel nicht übertragbar; neben denselben finden sich im Gewebe der Ratten allerdings auch leicht züchtbare Diphtherideen, ähnlich wie bei Lepra. Andererseits ist es mir einigemal gelungen, Leprabacillen in der Haut von Ratten nach Monaten zu mäßiger Vermehrung zu bringen, indem sich kleine Knötchen, aus leprabacillenhaltigen Zellen bestehend, gebildet hatten, welche sich aber zum Teil zurückbildeten ¹⁾.

Mezincescu versucht nun die Verwandtschaft der beiden Bacillen durch den Komplementbindungsversuch festzustellen, indem er als Antikörper das Serum eines Leprösen, als Antigen einen Extrakt der Knoten der Rattenkrankheit verwendete ²⁾. In der Tat gibt dieses System deutliche Komplementablenkung.

Allerdings wurde bloß ein lepröses Serum und bloß ein leproider Extrakt untersucht, so daß es wohl nicht angeht, aus diesem Versuche weitgehende Folgerungen zu ziehen.

1) Babes, Die Lepra 1900, Nothnagels Pathologie.

2) Mezincescu, Société de Biologie, sect. de Bucarest 1909.

Aber selbst wenn mehrere Fälle geprüft worden wären, wäre die Beweiskraft derselben sehr gering, da ja auch Tuberkulin, syphilitische Antigene etc. mit Lepraserum Komplementablenkung geben. Man könnte auf Grund solcher Versuche höchstens sagen, daß vielleicht eine Gruppenverwandtschaft zwischen den beiden Krankheiten besteht, was übrigens aus den übrigen Charakteren der Rattenkrankheit viel sicherer hervorgeht als aus dem Komplementablenkungsversuch.

Es ist eben prekär, wie aus unseren Versuchen zur Genüge hervorgeht, aus positiver Komplementablenkung bei Lepra irgendwelche Schlüsse zu ziehen. Die Lepra ist in dieser Beziehung noch weniger exklusiv als die Syphilis, indem bei Lepra nicht nur die syphilitischen Antigene und deren Ersatzstoffe, sondern auch die tuberkulösen Antigene, sowie jene anderer acidoresistenten Bacillen und Streptothricheen positive Reaktion auslösen.

Trotzdem können wir feststellen, daß, wenn in einer großen Reihe gut kontrollierter Fälle selbst kleine Dosen von Antikörpern und Antigenen eine komplette Reaktion auslösen, wir berechtigt sind, gewisse Schlüsse auf die Spezifität der betreffenden Substanzen zu ziehen, besonders dann, wenn diese Versuche auch mit anderen spezifischen Reaktionen übereinstimmen.

Zusammenfassung.

Unsere nach der Leprakonferenz in Bergen ausgeführten Versuche, sowie jene anderer Forscher bestätigen unsere auf der Konferenz mitgeteilten Resultate und geben denselben eine noch breitere experimentelle Basis. Wir können dieselben im folgenden zusammenfassen.

1) Eine der wichtigsten spezifischen Reaktionen der Lepra ist jene der Kochschen Probe mittels Rohtuberkulin. Auf diese Probe, wenn dieselbe so ausgeführt wird wie bei der diagnostischen Probe auf Tuberkulose, reagieren fast alle Leprösen.

In 2 Fällen von nicht aktiver (geheilte?) Lepra war hingegen das Resultat negativ. Da fast alle Leprösen auf diese Probe reagieren und da nicht alle Lepröse tuberkulös sind, bedeutet diese Reaktion durchaus nicht, daß die positiv

reagierenden Leprösen zugleich tuberkulös sind. Auch die Tatsache, daß die Leprösen auf Tuberkulin anders reagieren als Tuberkulöse, beweist einerseits, daß die Leprösen nicht deshalb reagieren, weil sie zugleich tuberkulös sind, andererseits, daß es sich hier um eine spezifische lepröse Reaktion handelt.

Ein weiterer Beweis, daß diese Reaktion nicht Tuberkulose bei Lepra bedeutet, ist die Tatsache, daß mehrere Lepröse mit positiver Kochscher Reaktion nach dem Tode weder makro- noch mikroskopisch noch experimentell Spuren von Tuberkulose erkennen ließen.

2) Man kann demnach aus der Kochschen Probe nicht auf die Identität, wohl aber auf die Verwandtschaft der beiden Krankheiten schließen. Diese Probe kann auch für die Diagnose der Lepra verwendet werden und haben unsere Versuche gezeigt, daß das Tuberkulin allein, besonders aber in Verbindung mit anderen Heilmethoden, zur Behandlung der Lepra herangezogen werden darf.

3) Die Pirquetsche Reaktion gibt bei Lepra unsichere Resultate, ebenso die Ophthalmoreaktion, welche letztere übrigens in der Mehrzahl der Fälle positive Reaktion gibt, doch ist es nicht gestattet, zu behaupten, daß nur jene Lepröse, welche Ophthalmoreaktion geben, zugleich tuberkulös sind, indem in vielen Fällen die Kochsche Probe positiv und die Ophthalmoreaktion negativ ist.

4) Das Serum aller aktiv Leprösen gibt besonders mit ätherischen Extrakten von Lepromen (gewöhnlich komplette) Komplementablenkung. Dieselbe Reaktion geben auch Aetherextrakte aus jahrelang in Alkohol aufbewahrten Lepromen.

5) Das Serum tuberös Lepröser gibt in der Mehrzahl der Fälle mit Tuberkulin als Antigen vollständige Komplementablenkung. Die Resultate sind noch vollständiger bei Verwendung eines ätherischen Extraktes aus Tuberkelbacillen. Bei Nervenlepra ist diese Reaktion weniger ausgesprochen. Diese Reaktionen beweisen keineswegs, daß die Leprösen, welche reagiert haben, zugleich tuberkulös sind, denn das Serum Tuberkulöser gibt im Gegenteil mit Tuberkulin in der Regel keine oder nur unvollkommene Komplementablenkung.

Besonders wenn man das Tuberkulin so einstellt, daß dasselbe bei Lepra eben noch vollständige Komplementablenkung gibt, findet man, daß in Parallelversuchen dieselbe Dosis Tuberkulin mit Tuberkuloseserum keine oder nur ganz geringe Komplementablenkung gibt. Der ätherische Extrakt aus Tuberkelbacillen gibt hingegen auch mit Tuberkuloseserum in der Mehrzahl der Fälle Komplementablenkung. Umgekehrt gibt das Serum Tuberkulöser mit Lepraantigen keine Komplementablenkung.

6) Die Mehrzahl der tuberös Leprösen gibt mit dem syphilitischen Antigen und deren Ersatzstoffen Komplementablenkung, während dieselbe bei Nervenlepra öfters nicht erfolgt oder unvollkommen ist.

Umgekehrt gibt das Syphilisserum nur ausnahmsweise und auch dann unvollkommene Komplementablenkung mit leprösem Antigen. Unsere Enquête hat ergeben, daß die Leprösen, welche auf Syphilisantigen reagieren, nicht syphilitisch waren.

7) Komplementablenkung in einem oder in wenigen Fällen, unvollkommene oder ausnahmsweise Komplementablenkung kann bei Lepra nicht als spezifisch betrachtet werden. Derartige Reaktionen haben wir und andere beobachtet bei einem System, welches aus Lepraantigen und Syphilisserum aus Rattenleproïdantigen und Lepraserum, aus Lepraserum und Diphtherideenextrakt, aus Lepraserum und B.-Timotheus-Extrakt bestand. Diese Reaktionen, insofern dieselben in einer größeren Reihe von Fällen beobachtet wurden, können als Gruppenreaktion betrachtet werden.

8) Die Kochsche Reaktion, sowie die Komplementablenkung mittels Lepraextrakt, mittels Tuberkulin und mittels ätherischem Tuberkelbacillenextrakt können für die Diagnostik der Lepra und deren Heilung verwendet werden, dieselben sprechen überhaupt für die Möglichkeit einer wirksamen Behandlung der Krankheit mittels spezifischer Stoffe.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten
der Kgl. Universität Pavia (Prof. M. Ascoli).]

Ueber antigene Eigenschaften der Tumoriipoide.

Von Assistenten Dr. G. Izar.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Juli 1910.)

Durch frühere Untersuchungen ¹⁾ wurde nachgewiesen, daß das Blut von Ratten mit transplantablem Sarkom ebenso wie das Serum von menschlichen Trägern bösartiger Geschwülste meistagminpositiv reagiert. Es schien mir lohnend, das Verhalten von Ratten zu prüfen, bei denen das überimpfte Sarkom nicht angegangen war, wie dies mitunter, trotz der Virulenz des verwendeten Stammes, vorkommt.

Zu diesem Zwecke habe ich 6 Ratten, die 14 Tage und länger nach der Impfung keine Spur von Tumor zeigten (während gewöhnlich nach dieser Zeit das überimpfte Sarkom ein beträchtliches Volumen erreicht hat), geopfert. Bezüglich der Technik verweise ich auf die früheren Arbeiten.

Tabelle I.

Ratte No.	Geimpft am	Bemerkungen	Zeitabstand von der Impfung in Tagen	Tropfenzahl nach 1 Std. bei 50°, 9 ccm verdünntes Blut + 1 ccm		
				destill. Wasser	Sarkom- Ratten- antigen P.V., 1-proz. Emulsion	Mensch.- Carcin.- Antigen No. 34, ¹ / ₂₅₀ Emulsion
1	21. IV.	kein Tumor	48	58 + 4	59 — 3	59 — 2
2	"	"	48	59 + 5	60 — 2	60 — 4
3	"	voluminöser Tumor	48	59 + 3	63 + 4	62 + 3
4	9. V.	kein Tumor	30	60 — 3	60 + 1	60
5	"	"	30	60 — 2	60 + 3	60 + 1
6	"	voluminöser Tumor	30	58 + 7	62 + 5	62 + 1
7	25. V.	kein Tumor	14	59 + 4	59 + 5	59 + 3
8	"	"	14	59 + 5	60 — 2	60 — 4
9	"	voluminöser Tumor	14	60 — 2	64 + 5	63 + 5
10	—	normal	—	60	60 + 2	60 + 3

Wie aus Tabelle I hervorgeht, ist das Serum von Ratten, bei denen das Sarkom nicht angegangen ist, nach 14 Tagen oder länger meistagminnegativ.

1) Diese Zeitschrift, 1910.

Immerhin erschien es aber möglich, daß diese Tiere spezifische Meiostagmine zwar gebildet hätten, daß aber letztere zur Zeit der Prüfung aus dem Blute schon verschwunden seien. Die Möglichkeit kann schwerlich oder nur an großem Tiermaterial durch Untersuchungen von Ratten in verschiedenen Zeitabständen von der Impfung geprüft werden, da nicht voraussagen ist, in welchen Ratten der Tumor nicht zur Entwicklung kommen wird.

Deshalb wurde versucht, der Frage auf indirektem Wege in zweifacher Weise näherzutreten: erstens wurden für das Rattensarkom unempfindlichen Tieren (Meerschweinchen) Stückchen dieses Tumors in Hauttaschen eingeführt, zweitens wurden sowohl Ratten als Meerschweinchen mit Rattensarkom-antigen subkutan oder intraperitoneal behandelt. Letztere Versuche versprachen auch einen Beitrag zur theoretisch für die Auffassung der Meiostagminreaktion bedeutenden Frage zu liefern, nämlich ob unser sogenanntes Tumorantigen tatsächlich antigene Eigenschaften besitzt und seinen Namen auch verdient, ob es im tierischen Organismus die Bildung spezifischer Meiostagmine anzuregen imstande ist.

Tabelle II.

Am 4. VI. wird eine Ratte mit einem hühnereigroßen Sarkom (geimpft am 21. IV.) entblutet. Das steril entnommene Sarkom wird in vier gleiche Teile geschnitten und dieselben 4 Meerschweinchen subkutan eingeführt. Die Wunde wird kauterisiert und mit Kollodium bedeckt.

Meerschw. No.	Gewicht in g		Zeitabstand von der Impfung in Tagen	Bemerkungen	Tropfenzahl nach 1 Stunde bei 50°, 9 ccm auf $\frac{1}{10}$ verdünntes Serum + 1 ccm			
	vor der Behandlung	nach der Behandlung			destill. Wasser	Sarkom-Ratten-antigen 1-proz. Emulsion	Mensch.-Carcin.-Antigen No. 34 $\frac{1}{250}$ Emulsion	Mensch.-Carcin.-Antigen No. 37 b 3 $\frac{1}{125}$ Emulsion
1	590		3		58 + 2	61 - 2	60 + 4	61 + 5
		550	11	erbsengroßer Knoten	58 + 4	61 + 2	60 + 5	61 - 3
2	820		5		60 - 5	62 + 3	62 + 1	62 + 5
		780	13	winziger Knoten	59 + 3	62 + 5	62 - 1	62 - 3
3	620		7		59 + 1	62	61 + 4	62 + 2
		600	15	Tumor vollst. resorbiert	59 + 5	60 - 2	60 - 3	60 - 1
4	400		9		59 - 2	61 + 4	61 - 3	61 + 1
		400	17	dgl.	59	59 + 1	59 + 2	59

Kontrollen mit Serum frischer Meerschweinchen versetzt mit denselben Antigenen siehe Tabelle IV.

Tabelle II entnehmen wir, daß die subkutane Einführung von Stückchen transplantablen Rattensarkoms beim Meerschweinchen das Auftreten spezifischer (vgl. Tabelle V) Meiestagmine bedingt; Resorption und Schwund des transplantierten Tumorstückchens sind vom Schwunde dieser Reaktionskörper aus dem Blute gefolgt.

Tabelle III.

Ratte No.	Gewicht in g	Injiziertes Sarkom- Ratten- antigen ccm	Art der Injekt.	Zeitabstand von der Injektion in Tagen	Tropfenzahl nach 1 Std. bei 50°, 9 ccm verdünntes Blut ¹⁾ + 1 ccm		
					destill. H ₂ O	Sarkom- Ratten- antigen 1-proz. Emulsion	Mensch.- Carcin.- Antigen No. 34 ^{1/250} Emulsion
1	70	0,5	subk.	37	64	67 + 5	67 + 3
2	90	0,5		36	65	68 + 4	67 + 2
3	70	0,5		35	63 + 2	65 + 3	65 + 1
4	55	0,2	äther. Lös.	35	63 + 1	64 - 3	64 + 3
5	45	0,1		36	62 + 3	63 - 1	63 + 1
6	75	0,05		35	62 + 5	63 - 4	63 - 2
7	57	0,05	ohne intrap.	35	61 - 1	61 + 3	61 + 1
8	60	0,2		34	63 - 2	64 + 4	64 + 5
9	85	0,5		33	63 + 3	65 + 2	65 + 5
10	48	0,2	äther. Lös.	24	63 - 2	64 + 5	64 + 3
11	45	0,1		24	64	64	64 + 2
12	100	0,0		18	63 - 1	65 + 4	65 + 2
13	40	0,0	Aether	17	63 + 4	65 + 5	65 + 1
Kontroll- tiere							
A	fehlt	Seit 42 Tg. mit Rattensark.			68 + 2	74 + 7	71 + 3
B	fehlt				70 + 4	73 + 1	72 + 2
C	80	Seit 7 Tg. mit Rattensark.			66 - 3	69 + 1	68 + 3
D	65				67 + 2	69 + 5	69 + 4
α	70	Normal			63 - 2	63	63 + 1
β	75				62 + 1	62 + 2	62 + 3

Tabelle III zeigt, daß die subkutane oder intraperitoneale Einspritzung von Sarkom-Rattenantigen sowohl bei Ratten als bei den für diesen Tumor nicht empfänglichen Meerschweinchen

1) In allen diesen Versuchen wurde das Blut in 25 ccm destill. H₂O aufgefangen, das Fibrin durch Kolieren entfernt, die Blutlösung auf 27 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt und durch Zusatz von 3 ccm 85-proz. NaCl-Lösung isotonisiert.

das Auftreten von spezifischen Meistagminen hervorruft.

Tabelle IV.

Meersch. No.	Gewicht in g		Subkutan injiziertes Sarkom- Ratten- antigen ccm	Zeitabstand von der Injektion in Tagen	Tropfenzahl nach 1 Stunde bei 50° 9 ccm auf $\frac{1}{20}$ verdünntes Serum + 1 ccm			
	vor der Be- handlung	nach der Be- handlung			destill. Wasser	Sarkom- Ratten- antigen 1-proz. Emulsion	Mensch.- Carcin.- Antigen No. 34 $\frac{1}{150}$ Emulsion	Mensch.- Carcin.- Antigen No. 37 b 3 $\frac{1}{125}$ Emulsion
5	290	270	0,3	3	59 + 4	61 + 5	62 - 3	61 + 5
6	330	320	0,3	12	60 - 3	60 + 1	60 + 1	60 + 1
7	300	290	0,3	6	58 + 3	61 + 5	61 + 1	61 + 4
8	290	290	0,3	15	59 + 5	60 + 1	60 - 2	60 - 2
9	215	200	10,0	9	60 + 4	61 - 3	61 - 2	60 + 5
10	250	230	10,0	18	60	60 + 2	60 + 1	60
a				3	58 + 1	61 + 2	60 + 4	61 + 3
b				12	59	62 - 2	61 + 2	61 + 5
c				6	59 - 2	61 + 5	61 - 1	61 + 2
d				15	59 - 1	61 + 5	61 + 2	61 + 3
				9	59 + 1	62 + 2	62 - 2	62 + 2
				18	59 + 3	62 - 1	61 + 4	62 - 3
a				—	58 + 3	58 + 4	58 + 5	58 + 2
b				—	59 - 2	59 - 2	59 + 2	59 - 1
c				—	59 + 1	59 + 2	59 + 4	59 + 1
d				—	58 + 5	58 + 4	59 - 2	58 + 5

Tabelle V.

Meersch. No.	Zeitabstand von der Injektion in Tagen	Tropfenzahl nach 1 Stunde bei 50° 9 ccm auf $\frac{1}{20}$ verdünntes Serum + 1 ccm		
		destilliertes Wasser	Tb. Antigen $\frac{1}{50}$ Emulsion	syphilit. Antigen $\frac{1}{50}$ Emulsion
1	11	58 + 4	59 + 5	59 + 4
2	13	59 + 3	59 + 4	59 + 3
5	12	60 - 3	60	60 - 1
6	15	59 + 5	60 - 3	60 - 2
8	12	59	59 + 3	59 + 2
9	15	59 - 1	59 + 2	59 + 1

Von 13 mit verschiedenen (von 0,05 zu 0,5 ccm) Antigenmengen und in verschiedenen Zeitabständen (18—40 Tage) geopfertten Ratten reagierten 8 positiv, und zwar sowohl mit dem Rattensarkomantigen als mit menschlichem Tumorantigen,

4 reagierten nicht, 1 ergab zweifelhafte Reaktion. In den negativen Fällen war die verabreichte Antigenmenge klein (0,05—0,1 ccm) und der zeitliche Abstand zwischen Einspritzung und Prüfung ziemlich groß; hingegen reagierten die Tiere, welche 0,5 ccm oder mehr Antigen erhalten hatten, alle und sogar noch nach 37 Tagen meiotagminpositiv.

Aehnlichem Verhalten begegnen wir auch beim Meerschweinchen: ist die eingeführte Antigenmenge sehr klein (0,3 ccm für ein Meerschweinchen von 300 g Gewicht), dann verschwinden die spezifischen Meiotagmine schon nach ungefähr 9 Tagen, war die Antigenmenge größer, so persistieren die Meiotagmine 20 Tage und länger.

Das Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen lautet dahin, daß die vorschriftsmäßig bereiteten Tumorantigene tatsächlich auch antigene Eigenschaften besitzen; im Tierexperiment scheint die Bildung von Tumormeiotagminen an die bestehende oder vorausgegangene Anwesenheit eines Tumors oder seiner Lipide im Organismus gebunden zu sein.

Zusammenfassung.

1) Das Serum von Ratten, bei denen das transplantable Sarkom nicht angegangen ist, reagiert nach 14 Tagen oder länger meiotagminnegativ.

2) Die subkutane Einführung von Stückchen transplantablen Rattensarkoms beim Meerschweinchen bedingt das Auftreten spezifischer Tumormeiotagmine; Resorption und Schwund des transplantierten Tumorstückchens sind vom Schwunde dieser Reaktionskörper aus dem Blute gefolgt.

3) Die subkutane oder intraperitoneale Einspritzung von Sarkom-Rattenantigen sowohl bei Ratten als bei den für diesen Tumor nicht empfänglichen Meerschweinchen ruft das Auftreten von spezifischen Meiotagminen hervor.

Nachdruck verboten.

[Aus dem städtischen hygienischen Institut zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. M. Neisser). Bakteriologische Abteilung
(Abteilungsvorsteher Dr. Altmann).]

Experimentelle Studien über Erzeugung serologisch nachweisbarer Variationen beim Bacterium coli.

Von
Dr. K. Altmann, und Dr. A. Rauth,
Abteilungsvorsteher am hygienischen Institut. Assistenzarzt der mediz. Klinik des städt. Krankenhauses (Prof. Dr. Schwenkenbecher).

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Juli 1910.)

Ausgangspunkt der vorliegenden experimentellen Arbeit bildeten Befunde, die wir gelegentlich früherer Untersuchungen des einen von uns¹⁾ über den Zusammenhang der komplementbindenden und agglutinierenden Antikörper speziell beim Bacterium coli erhoben haben.

Es ist bekannt, daß sich Colistämme verschiedener Herkunft serologisch durchaus different verhalten, in dem Sinne, daß ein mit einem Colistamm erzeugtes Immunserum im wesentlichen nur auf den zur Immunisierung verwandten Stamm (den homologen) wirkt, während andere (heterologe) Stämme entweder gar nicht oder in bedeutend geringerem Grade beeinflußt werden.

Dieses Verhalten, das bisher im wesentlichen nur durch die Agglutinationsreaktion festgestellt wurde, konnten wir auch mit Hilfe der Komplementbindung aufdecken. Ohne im einzelnen auf diese Versuche einzugehen, die wir an anderer Stelle ausführlich veröffentlichen wollen, möchten wir hier nur der Tatsache Erwähnung tun, daß sich nicht nur in dem Darm verschiedener Individuen derselben wie einer anderen Species verschiedene Colistämme vorfinden, sondern daß auch in dem Darm eines und desselben Individuums zu einer Zeit serologisch verschiedene, wenn auch morphologisch und kulturell gleiche Colistämme vorhanden sind.

1) K. Altmann, Komplementbindung und Agglutination bei der Paratyphus-Typhus-Coligruppe. Centralbl. f. Bakteriol. etc., Orig., Bd. 54, Heft 2.

Diese eigenartige Tatsache läßt verschiedene Deutungen zu, entweder es werden mit der Nahrung allmählich verschiedene Colistämme aufgenommen, die sich im Darm ansiedeln, oder wenn wir mit Smith¹⁾ annehmen, daß die Darmflora normaler Brustkinder einrassig ist, und sich erst mit dem Einsetzen einer anderen Ernährung verschiedene Colitypen herausbilden, so können wir das nur so verstehen, daß eine gewisse Differenzierung des ursprünglichen Coli unter dem Einfluß der veränderten Ernährungsbedingungen desselben eintritt. Diese selbe Differenzierung könnte dann natürlich auch beim Erwachsenen unter uns vorläufig nicht bekannten Bedingungen jederzeit stattfinden.

Wir hätten dann nach dieser Anschauung mit einer Variationsmöglichkeit beim *Bacterium coli* zu rechnen, die, ausschließlich am Rezeptorenapparat lokalisiert, darum um so bedeutungsvoller ist, als sich ja gerade auf der Tatsache der Konstanz der Rezeptoren die neuen biologischen Methoden der Bakterienerkennung und -differenzierung aufbauen. Diese Konstanz des Rezeptorenapparates ist bei den obligat parasitären Bakterien ebenso groß wie die Unveränderlichkeit ihrer morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten. Alle gegenteiligen Behauptungen, wie z. B. der Uebergang von Typhusbacillen in *Bacterium coli* oder in dem *Bacillus alcaligenes*, sowie Uebergänge des Tuberkelbacillus in andere säurefeste Stäbchen haben einer berechtigten Kritik nicht standhalten können.

Je mehr wir uns aber von der Gruppe der Vollparasiten entfernen, um so mehr häufen sich die Beobachtungen über die Entstehung zahlreicher Varietäten, die meist morphologischer und kultureller Natur sind. Besonders zahlreich sind diese beim *Bacterium coli* beschrieben, wir verweisen auf die Arbeiten von Massini²⁾, Neisser³⁾, Burk⁴⁾, Reiner-Müller⁵⁾, Burri⁶⁾ u. a., sowie be-

1) Smith, Zur Kenntnis der Colibacillen des Säuglingsstuhles. Centralblatt f. Bakteriol., Orig., Bd. 25, 1899.

2) Massini, Arch. f. Hyg., 1907, p. 250.

3) M. Neisser, Centralbl. f. Bakter., Abt. I, Ref., Bd. 38, 1906, p. 98.

4) Burck, Arch. f. Hyg., Bd. 65, 1908, p. 235.

5) Reiner-Müller, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 17.

6) Burri, Zur Frage der „Mutationen“ bei Bakterien der Coligruppe. Centralbl. f. Bakteriol., Abt. I, Orig., Bd. 54, Heft 3.

sonders auf die zusammenfassende Darstellung von Pringsheim¹⁾, sowie von Escherich und Pfaundler²⁾. Wir möchten hier auf diese Varietäten nicht näher eingehen, da sich unsere Arbeit lediglich mit solchen Veränderungen zu befassen haben wird, die, ohne morphologisch und kulturell bemerkbar zu werden, dennoch durch die biologischen Serumreaktionen nachweisbar sind. Angaben über derartige Umwandlungen sind bisher in der Literatur außerordentlich spärlich vorhanden. Es kommt da im wesentlichen nur die Arbeit von Sobernheim und Seligmann³⁾ in Betracht, in der über interessante Veränderungen des agglutinierenden Verhaltens bei den beiden großen Typen der Salmonellagruppe berichtet wird. Sie fanden, daß zur Paratyphus-B-Gruppe gehörige *Bacillus Aertryck*-Stämme sich allmählich im Laufe der Fortzüchtung insofern dem Gärtnerotyp näherten, als sie auch von Gärtnerserum beeinflußt wurden. Ihre agglutinogenen Eigenschaften hatten sich allerdings erhalten, denn es konnten mit ihnen nur reine Paratyphussera erzeugt werden. Einen wirklich vollkommenen Uebergang des *Bacillus Paratyphus B* in einen *Bacillus enteritidis* Gärtner konnten die Verff. jedoch nicht nachweisen. Ferner eine ganz neuerdings erschienene Arbeit von Marks⁴⁾, der durch Züchtung auf Nährböden mit einem Zusatz von arseniger Säure einen der Paratyphus-B-Gruppe angehörenden Stamm dergestalt veränderte, daß seine Agglutinierbarkeit gegenüber einem homologen Immunserum sowie gegen Schweinepestserum herabgesetzt, dagegen für ein anderes Paratyphusserum gesteigert wurde.

Um nun auf unsere eigenen Untersuchungen, experimentell Rezeptorenvarietäten beim *Bacterium coli* zu erzeugen, einzugehen, so mußten wir zunächst feststellen, ob bei länger fort-dauernder Züchtung auf Nähragar die biologischen und sero-

1) Pringsheim, Ueber die Variabilität niederer Organismen. Berlin (J. Springer) 1910.

2) Escherich und Pfaundler, *Bact. coli commune*. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, Bd. 3, p. 334,

3) Sobernheim und Seligmann, Beobachtungen über die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften von Bakterien. Deutsche med. Wochenschr., 1910, No. 8.

4) Marks, Lewis H., Ueber einen arsenfesten Bakterienstamm. Zeitschrift f. Immunitätsforschung u. experim. Therapie, Bd. 6, Heft 1, p. 293.

logischen Merkmale des *Bacterium coli* konstant bleiben. Wir wählten zu diesem Zwecke drei aus verschiedenen Kaninchen gewonnene Colistämme (Coli 34, Coli 7 und Coli 2), die in ihrem Verhalten gegenüber Zuckernährböden, Lackmusmolke, Milch, Indolbildung völlig typisch waren. Von jedem dieser Colistämme wurden durch intravenöse Einverleibung bei 60° abgetöteter Kulturen Immunsera hergestellt. Diese Immunsera wirkten nur auf den homologen Stamm, während sie auf die beiden anderen, sowie eine Reihe anderer Colistämme verschiedener Herkunft keinen Einfluß hatten. Es stellte sich ferner heraus, daß zwei derselben bei niedrigen Agglutinationswerten sich im Komplementbindungsversuch außerordentlich wirksam zeigten. Ein Verhalten, auf das gerade beim Coli Altmann¹⁾ schon hingewiesen hat. Der dritte Colistamm zeigte ein überaus merkwürdiges Verhalten. Es war derselbe Stamm, von dem in der obenerwähnten Arbeit mitgeteilt wurde, daß derselbe sehr starke Agglutination bei schwacher Komplementbindung gab (Centralbl. f. Bakteriolog., Orig., Bd. 54, Heft 2, p. 182, Tab. VI). Wie die jetzt wiederholte Prüfung ergab, hatte sich das Verhalten des Stammes dem ursprünglichen Immunsereum gegenüber völlig geändert, indem die Agglutination schwächer geworden, dafür aber sehr deutliche und starke Komplementbindung zu verzeichnen war. Auch durch neue Immunisierung mit dem alten Stamm erzeugte Sera gaben bei mittelstarker Agglutination starke Komplementbindung. Dies erinnert an einen Befund, den Sobernheim²⁾ bei einem vom Pferde stammenden Tuberkuloseimmunsereum erhoben hat, welcher starke agglutinatorische und bakteriotrope Eigenschaften hatte, dagegen keinerlei Komplementbindung gab; bei einer nach ungefähr einem Jahre wiederholten Prüfung desselben Serums gab dasselbe mit den früheren Stämmen sehr starke Komplementbindung, während die agglutinierenden und bakteriotropen Eigenschaften in ausgesprochenem Maße abgenommen hatten. Das Verhalten der 3 Stämme kommt in den Tabellen I, Ia, Ib zum Ausdruck.

1) l. c.

2) Sobernheim, Ueber Tuberkuloseantikörper. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie, I. Teil, Orig., Bd. 5, Heft 4.

Tabelle I.

Kaninchen 2 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 2:

- 1) am 1. VIII. 09 $\frac{1}{8}$ Oese
 2) „ 8. VIII. 09 $\frac{1}{4}$ „
 3) „ 16. VIII. 09 $\frac{1}{2}$ „ } intravenös.

Entblutet am 24. VIII. 09.

Serum Kan. 2 inaktiv, mit physiol. NaCl- Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin- extrakt aus Coli 2 verdünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:5	Hämolytisch. Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse	Serum Kan. 2 verdünnt	Agglutinat. von Formol- kultur Coli 2
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:100	+++
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:200	+++
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:400	++
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:800	+
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:1600	+
0,003	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:3200	+
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Kontrolle	—
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	kompl.	ohne Serum	—
	0,2	0,1	0,1	0,5	0		
	0,2			0,5	0		

Tabelle Ia.

Kaninchen 18 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 7:

- 1) am 6. X. 09 $\frac{1}{8}$ Oese
 2) „ 13. X. 09 $\frac{1}{4}$ „
 3) „ 26. X. 09 $\frac{1}{2}$ „
 4) „ 6. XI. 09 $\frac{1}{4}$ „
 5) „ 19. XI. 09 $\frac{1}{2}$ „ } intravenös.

Entblutet am 27. XI. 09.

Ser. Kan. 18 inaktiv, mit physiol. NaCl- Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin- extrakt aus Coli 7 verdünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:4	Hämolytisch. Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse	Serum Kan. 18 inaktiv. verdünnt	Agglutinat. von Formol- kultur Coli 7
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:100	+++
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:200	+++
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:400	—
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:800	—
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Kontrolle	—
0,003	0,1	0,1	0,1	0,5	0	ohne Serum	—
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0		
0,001	0,1	0,1	0,1	0,5	mäßig		
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	kompl.		
	0,2	0,1	0,1	0,5	0		
	0,2			0,5	0		

Tabelle Ib.

Kaninchen 36 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 34:

- | | |
|--------------------------------------|---------------|
| 1) am 8. XII. 09 $\frac{1}{16}$ Oese | } intravenös. |
| 2) „ 15. XII. 09 $\frac{1}{8}$ „ | |
| 3) „ 23. XII. 09 $\frac{1}{4}$ „ | |
| 4) „ 30. XII. 09 $\frac{1}{2}$ „ | |

Entblutet am 7. I. 10.

Ser. Kan. 36 inaktiv, mit physiol. NaCl- Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin- extrakt aus Coli 34 verdünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:4	Hämolytisch. Ambozeptor verdünnt 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse	Serum Kan. 36 aktiv. verdünnt	Agglutinat. von Formol- kultur Coli 34
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:100	+++
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:200	+++
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:400	+
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:800	+?
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0	1:1600	—
0,001	0,1	0,1	0,1	0,5	mäßig kompl.	Kontrolle ohne Serum	—
0,1	0,2	0,1	0,1	0,5	0		
	0,2			0,5	0		

Die Agglutination führten wir nach der Methode von Neisser-Pröschner (Formolkulturen) aus. Doch bedienten wir uns, da die Agglutinationswerte unserer Sera verhältnismäßig gering waren, fast ausschließlich der Komplementbindung. Die Technik derselben war bis auf die Extraktbereitung die übliche. Als Komplement verwendeten wir frisches aktives Meerschweinchenserum, das täglich mit dem einmal eingestellten Ambozeptor neueingestellt und in der doppelten der gerade noch zur kompletten Lösung ausreichenden Menge verwandt wurde. Der hämolytische Ambozeptor stammte vom Kaninchen, das mit Hammelblutkörperchen immunisiert war, demgemäß war das benutzte Blut Hammelblut. Als Extrakte verwendeten wir die von Altmann¹⁾ angegebenen

1) K. Altmann, Mitteilung der wissenschaftlichen Vereinigung am städtischen Krankenhause zu Frankfurt a. M. (Ref. Münch. med. Wochenschrift, 1909) — und J. H. Schultz, Verwendung von Bakterien-Antiforminextrakten als Antigen bei der Komplementbindung. (Zeitschrift für Immunitätsf. u. exp. Ther., Bd. 3, 1909, p. 98.) — Sachs und Altmann, Komplementbindung. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, Erg.-Bd. 2, p. 512.

Antiforminextrakte. Bezüglich ihrer Darstellungsweise weisen wir besonders auf die Angaben in der letzterwähnten Arbeit hin, zu denen wir noch hinzufügen wollen, daß es ratsam ist, die Extrakte zur Lösung statt 30 etwa 40 Minuten einer Temperatur von 40—50° auszusetzen, da dann der größte Teil des überschüssigen Chlors verschwunden ist, so daß man zur Ausneutralisierung nur noch einer ganz geringen Quantität von Natriumsulfidlösung bedarf. Auch kommt es zuweilen vor, daß manche Extrakte vor der Ausneutralisierung ein etwas trübes Aussehen haben, dieses klärt sich jedoch nach Abstumpfung des überschüssigen Alkali sowie des Chlors völlig auf.

Zur Agglutination möchten wir noch bemerken, daß wir stärkere Serumkonzentrationen als 1:50 nicht verwendeten, da in niedrigen Konzentrationen auch normale Kaninchensera die verschiedensten Colistämme fast stets agglutinieren, die Reaktion also der für unsere Versuche erforderlichen Spezifität entbehrt. Diese Gefahr liegt, wie ebenfalls bereits in den oben-erwähnten Arbeiten auseinandergesetzt ist, bei der Komplementbindung nicht vor, da es bei der richtigen Wahl der zum hämolytischen und antibakteriellen Immunserum passenden Blutart (bei Kaninchenseren also Hammelblut) gerade in den höheren Serumkonzentrationen niemals zu unspezifischen Hemmungen kommt.

Die von uns verwandten 3 Colistämme wurden mehrere Monate lang täglich auf Agar abgestochen. Von Zeit zu Zeit wurden die Kulturen tage- und wochenlang im Eisschrank aufbewahrt. Bei keinem der so behandelten Stämme war eine Veränderung weder des kulturellen noch des serologischen Verhaltens zu konstatieren. Wie von Zeit zu Zeit wiederholte Spaltungen der einzelnen Stämme ergaben, verhielten sich die einzelnen Individuen der Kulturen dem Immunserum gegenüber annähernd gleichwertig.

Dabei möchten wir einer Tatsache Erwähnung tun, die bei einer derartigen Prüfung leicht zu Irrtümern Veranlassung geben kann. Nicht selten finden wir nämlich in den zunächst von einer einzelnen Kolonie abgestochenen Kulturen bei weiterer Spaltung verschiedene Typen von Kolonien, die sich häufig schon makroskopisch voneinander unterscheiden. So

waren z. B. bei Coli 73 verschieden aussehende Kolonien vorhanden, erstens solche, die ein blasses, durchscheinendes, andere die ein mehr trübes, milchweißes Aussehen auf Agar hatten, schließlich solche, die deutlich gezackte Ränder aufwiesen. Bei Coli 2 konnten wir die beiden zuerst erwähnten Formen von Kolonien nachweisen. Alle diese einzelnen Stämme verhielten sich kulturell gleich.

Wir züchteten nun nebeneinander die ungespaltenen Kulturen wie die einzelnen Spaltprodukte auf Agar weiter und stellten von allen Stämmen Immunsera her. Dabei ließ sich feststellen, daß sämtliche Immunsera mit den ungespaltenen und mit den gespaltenen Stämmen sich gegenüber der Komplementbindungsreaktion sowie agglutinativ annähernd gleich verhielten.

Bei diesen über Monate fortgezüchteten Stämmen fanden wir die außerordentlich überraschende Tatsache, daß die einzelnen Spaltprodukte im allgemeinen insofern gleichbleiben, als wir bei weiteren Spaltungen aus den blassen Kolonien meist nur blasse aus den trüben, im wesentlichen nur trübe hervorgehen sahen. Aus den ungespaltenen Stämmen ließen sich jederzeit die bei der ersten Spaltung gefundenen Kolonien wiederfinden. Allerdings veränderte sich im Laufe der Zeit das Zahlenverhältnis der einzelnen Kolonien zueinander.

Nicht ganz so konstant war das Verhalten älterer Stämme, zumal wenn sie in längeren Pausen überimpft wurden. Zwar war auch bei diesen zunächst eine Veränderung nicht zu konstatieren, denn zu verschiedenen Zeiten aus ihnen hergestellte Extrakte gaben unvermindert starke Komplementbildung mit dem homologen Serum. Nur bei Spaltungen konnte man in diesen alten Kulturen einzelne Kolonien auffinden, die nur noch schwache oder gar keine Komplementbindung zeigten. Zuweilen fielen diese Kolonien schon durch ihr verändertes Aussehen auf. Sie waren entweder sehr klein oder unverhältnismäßig groß.

Wir können also sagen, daß wir bei monatelanger Züchtung auf Agar bei regelmäßiger Ueberimpfung wesentliche serologische Veränderungen unserer Colistämme nicht haben konstatieren können.

Es lag nun nahe, das Verhalten unserer Colistämme bei Fortzüchtung in flüssigen Nährmedien hinsichtlich etwaiger Veränderungen zu studieren. Wir gingen dabei ebenso vor wie bei der Züchtung auf Agar, d. h. wir überimpfen die Kulturen in verschiedenen Zeitintervallen (24-stündig, 2-, 8-, 14-tägig, 3- und 4-wöchentlich). Doch nahmen wir zu diesen, ebenso wie zu den weiter unten zu besprechenden Versuchen nicht die Originalstämme, sondern aus diesen durch Spaltung gewonnene Zweigstämme. Wir gingen bei allen von einer trüben Kolonie aus und verwandten auch nur Immunsera, die mit diesen Zweigstämmen hergestellt sind. Wir bezeichnen diese Stämme als Coli 2 tr, dem entspricht Immunserum Kaninchen 78, Coli 7 tr, diesem entspricht Serum Kaninchen 18 und Coli 34 tr, dem Serum Kaninchen 56 entspricht. Von Zeit zu Zeit wurden aus den Bouillonkulturen Agarröhrchen für Antiforminextrakte sowie Plattensätze zur Spaltung der in den Kulturen vorhandenen Keime angelegt. Dabei fiel gleich im Anfange eine gewisse Verschiedenheit der Bouillonkulturen gegenüber den auf Agar fortgezüchteten Stämmen auf. Hatten wir bei diesen neben dem Gleichbleiben der komplementbindenden Eigenschaft eine ziemlich große Konstanz im Aussehen der bei jedesmaliger Spaltung resultierenden Kolonien aus Einzelindividuen feststellen können, indem die aus den ursprünglichen Colistämmen abgespaltenen Kolonien von verschiedenartigem Aussehen bei weiterer Fortzüchtung dieses Aussehens im wesentlichen festhielten, so sehen wir bereits nach verhältnismäßig kurzem Wachstum in Bouillon (2—3—4 Wochen bei 3-tägiger und 14-tägiger Ueberimpfung) aus den trüben Kolonien unserer Colistämme sämtliche Kolonienformen des ursprünglichen Ausgangsstammes hervorgehen. Ebenso wie bei diesen, wurden auch die jetzigen Zweigstämme bei der Komplementbindung in gleicher Weise beeinflußt.

Neben diesen rein morphologischen Umwandlungen, die das serologische Verhalten in keiner Weise beeinflußten, gehen aber in den Bouillonkulturen weitere tiefgreifende Veränderungen einher. Diese geben sich zunächst dadurch kund, daß häufig, allerdings nicht konstant, die komplementbindende Fähigkeit der Bouillonstämme geringer zu werden beginnt.

Tabelle II gibt die Verhältnisse bei dem einen unserer Stämme wieder.

Tabelle II.

Ser. Kan. 56 inaktiv., mit physiol. NaCl- Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin- extrakt ver- dünnt 1:2	Meersch.- Ser. akt., ver- dünnt 1:5	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Eingetretene Hämolyse bei Ver- wendung von Antiforminextrakt aus	
						Coli 34 tr Agarpassage (Kontrolle)	Coli 34 tr Bouillon- passage 7mal in 8-täg. Intervallen abgestorb.
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	Spürchen
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	Spur
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	wenig
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	stark
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	Spürchen	komplett	komplett
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	mäßig	komplett	"
0,1	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	0	"

Tabelle III.

Kaninchen 56 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 34:

- 1) 8. III. 10 $\frac{1}{8}$ Oese
 - 2) 15. III. 10 $\frac{1}{4}$ „
 - 3) 22. III. 10 $\frac{1}{2}$ „
- } intravenös.

Entblutet am 29. III.

Ser. Kan. 56 inaktiv., mit physiol. NaCl- Lösung zu 0,5 ccm aufgelöst	Antiformin- extrakt ver- dünnt 1:2	Meersch.- Ser. akt., ver- dünnt 1:5	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Eingetretene Hämolyse bei Ver- wendung von		
						Kontrolle (Coli 34) tr Agarpassage	Extrakt a ¹⁾	Extr. b ¹⁾
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	fast kompl.	Spur
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	dgl.	"
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	komplett	"
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	"	wenig
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	"	mäßig
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	fast komplett	komplett	"	stark
0,1	0,2	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	"	komplett
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	0	"	"

Wie man sich aus Tabelle III überzeugen kann, hat das darin seinen Grund, daß in den Bouillonkulturen allmählich

1) Extrakte a und b bedeuten Extrakte aus je einem Stamm, der durch Spaltung aus der in Tabelle II Kolumne 2 demonstrierten Bouillonkultur gewonnen ist.

Individuen auftreten (in Tabelle III Kolumne 2 ist das Verhalten eines dieser Keime demonstriert), die von dem ursprünglichen Immunserum nicht beeinflußt werden, deren Rezeptorenapparat sich also völlig verändert hat. Daneben sehen wir in Kolumne 3 Uebergangsstufen, die noch deutlich, wenn auch in geringerem Maße, als der Originalstamm Komplementbindung geben. Je nach der Reichlichkeit der veränderten Keime wird sich der Grad der Komplementbindung richten, den die ungespaltenen Bouillonkulturen geben. Wir brauchen wohl nicht zu erwähnen, daß wir alle diese Stämme auf ihr kulturelles Verhalten hin eingehend untersuchten, ohne jemals ein Abweichen von ihrem typischen Verhalten feststellen zu können.

Besonders aufmerksam machen möchten wir auf einige Kolonietypen, die wir aus in 14-tägigen Intervallen überimpften Bouillonkulturen isoliert haben. Dieselben zeigten auf der Agarplatte ein derartig groteskes Aussehen, daß sie zunächst nicht als Colikolonien angesprochen wurden. Abgesehen von einem Riesenwachstum (die einzelnen Kolonien waren etwa 10mal so groß wie die übrigen Kolonien), wiesen sie ein körnig-bröckliges Gefüge auf und ließen sich in toto auf der Unterlage mit der Nadel verschieben. Das Wachstum auf Schrägagar ähnelte bis zu einem gewissen Grade dem des Heubacillus. Die Substanz der Kolonie verteilte sich in Abschwemmung nicht gleichmäßig in dem flüssigen Medium, so daß man eine diffus getrübe Aufschwemmung erhalten hätte, sondern sie war in Form krümeliger Brocken oder häutchenartiger Stückchen suspendiert. Dasselbe Aussehen wie diese Abschwemmungen zeigten die Bouillonkulturen.

Was diese Kulturen, die sich morphologisch und kulturell als Coli erwiesen, noch besonders auszeichnete, war ihr Verhalten bei der Extraktbereitung. Während sich sämtliche andere Stämme in 10 ccm 3-proz. Antiformins in $\frac{1}{2}$ Stunde glatt lösten, blieben bei diesen Stämmen nach dieser Zeit erhebliche Quantitäten ungelöst. Erst nach längerer Einwirkung größerer Mengen Antiformins trat Lösung ein. Die so bereiteten Extrakte erwiesen sich von starker antikomplementärer Wirkung, so daß sie selbst in Mengen von 0,012 ccm die Hämolyse an sich hemmten, während andere Extrakte,

wie aus unseren Protokollen hervorgeht, in Mengen von 0,1 bis 0,05 die Lösung von roten Blutkörperchen nicht verhindern. Wir waren deshalb gezwungen, im Ablenkungsversuch so geringe Mengen (0,005) des Antigens zu nehmen, daß man das Ausbleiben der Hemmung allein auf diesen Umstand zurückführen könnte. Worauf diese eigentümliche eigenhemmende Wirkung dieser Extrakte beruht, möchten wir zunächst nicht näher erörtern. Wir möchten nur so viel darüber sagen, daß sich durch bestimmte Vorbehandlung der Kulturen diese anti-komplementäre Eigenschaft nehmen läßt. Extrakte aus derart vorbehandelten Kulturen, denen also die eigenhemmende Wirkung zum Teil genommen ist, gaben in Verbindung mit dem homologen Immunserum keine Komplementbindung, so daß man also auch diese Stämme als in ihrem Rezeptorenapparat verändert anzusehen hat.

Zusammenfassend können wir also bemerken, daß wir im Gegensatz zur Züchtung auf Agar in Bouillon bei unseren Colistämmen anscheinend spontan auftretende Veränderungen sehen, die, das kulturelle Verhalten unberührt lassend, zur Entstehung serologisch deutlich verschiedener Varietäten führen. Daneben waren auch gelegentlich morphologische Veränderungen im Aussehen der Kolonien bemerkbar. Was die Art und Bedeutung dieser Veränderung anlangt, so werden wir weiter unten noch näher darauf zu sprechen kommen.

Wir haben bereits oben gesagt, daß die Tatsache der Vielgestaltigkeit, der bei demselben und bei verschiedenen Individuen vorhandenen und vorkommenden Colirassen uns an die Möglichkeit einer weitgehenden Anpassungsfähigkeit auch auf serologischem Gebiete mit Bildung bestimmter Varietäten hat denken lassen. Noch bevor wir die anscheinende Spontanveränderung in Bouillon hatten konstatieren können, waren wir daran gegangen, auf künstlichem Wege Veränderungen am Rezeptorenapparat hervorzurufen.

Als zweckmäßig erschien uns hierbei der Zusatz von Desinfektionsmitteln zum Nährboden. Notwendig war dabei natürlich festzustellen, ob sich bei regelmäßiger Fortzucht

auf gewöhnlichem Agar die serologisch-biologischen Eigenschaften des *Bacterium coli* konstant erhalten würden. Dies war, wie wir oben ausführlich dargelegt haben, über Monate hinaus der Fall.

Als Zusatzmittel zu unseren Nährböden verwendeten wir die Karbolsäure, die wir in bestimmten Konzentrationen mit unserem Schrägagar mischten. Die Fortimpfung erfolgte in 24-stündigen Intervallen bei gleichlaufender Parallelzüchtung desselben Stammes auf Agar ohne Karbolzusatz.

Die Konzentrationen, die unsere Stämme im Anfange vertrugen, waren bei unseren drei Coliarten verschieden. Während zwei derselben sich bei einem Gehalt von 1:1000 gut entwickelten, mußten wir beim *Coli* 2 bis auf Verdünnung von 1:1500 herabgehen, um ausreichendes Wachstum zu erzielen. Wir gingen nun so vor, daß wir langsam die Konzentration steigerten, dabei peinlich darauf sahen, daß stets üppiges Wachstum eintrat, da uns die Erfahrung lehrte, daß bei verminderter Wachstumsenergie eine Weiterimpfung auf stärkere Konzentrationen leicht zum Aufhören der Entwicklung führte. Auch lag uns besonders daran, unsere Bakterien in keiner Periode der Fortzüchtung funktionell zu schädigen, da es ja natürlich wäre, daß stark in ihrer Lebensenergie geschädigte Individuen zeitweise — solange eben die Schädigung dauert — Einbuße an ihren funktionellen Eigenschaften erleiden würden, die sich leicht in morphologischen und biologischen Veränderungen hätte dokumentieren können¹⁾. Dies ist uns, wie häufig angestellte kulturelle Prüfungen ergaben, niemals begegnet. Hinweisen möchten wir noch darauf, daß es zweckmäßig ist, beim Uebergang zur stärkeren Kon-

1) Daß solche Veränderungen durch künstliche Beeinflussung zustande kommen und leicht zu Irrtümern in der Deutung führen können, zeigen die Versuche von Bordet und Roux u. a., die durch eingreifende Einwirkungen von schädigenden Agentien *Colibacillen* so schädigten, daß sie kulturell dem *Typhusbacillus* sich genähert zu haben schienen, weshalb eine Reihe von Autoren annahm, daß auf diesem Wege die Umzüchtung des *Coli*- in den *Typhusbacillus* gelungen sei, bis besonders Villinger nachwies, daß es sich bei dieser „Umzüchtung“ um eine Verkümmerng des Bakteriums, um eine Einbuße an Lebensenergie und dadurch um einen Verlust biologischer Qualitäten handele, daß somit von einer Neuabwerbung biologisch wichtiger Eigenschaften keine Rede sein konnte.

zentration eine Zeitlang den Stamm auch nebenher auf der schwächeren Konzentration fortzuimpfen, bis das Wachstum des auf stärkerer Konzentration überimpften Bakteriums zeigt, daß nicht doch noch bei längerer Einwirkung dieser Konzentration eine sichtbare Schädigung auftritt. Auch empfiehlt es sich, die Nährböden nach der Bereitung 3—4 Tage vor der Verwendung stehen zu lassen, da ganz frisch bereiteter Karbolagar sich für die Bakterien als erheblich differenter erwies, so daß z. B. ein Colistamm, der auf einer Verdünnung von 1:800 üppig wuchs, auf einem ganz frisch bereiteten Agar von derselben Konzentration in seinem Wachstum gehemmt wurde.

Es gelang uns, unsere Colistämme im Zeitraum von ca. 6 Wochen nur an Konzentrationen bis 1:700 zu gewöhnen. Wir bezeichnen diese Stämme, zum Unterschied von den Originalstämmen, als Coli 34 tr c, Coli 7 tr c, Coli 2 tr c. Diese Karbolstämmen hatten sich, wie wir nochmals wiederholen möchten, kulturell in keiner Weise verändert. Um so bedeutungsvoller waren die Veränderungen auf serologischem Gebiet.

Wir stellten in regelmäßigen Intervallen Antiformin-extrakte her, nachdem wir zu diesem Zwecke den Stamm von Karbolagar auf gewöhnlichen Agar überimpft und 2×24 Stunden haben wachsen lassen. Diese Extrakte wurden dann auf ihre Reaktionsfähigkeit mit dem homologen Immunserum geprüft.

Tabelle IV.

Ser. Kan. 56 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung aufgefüllt zu 0,5 ccm	Antiformin- extrakt ver- dünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:3	Hämol. Amb. verd. 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Ver- wendung von Extrakt aus			
					Coli 34 tr Kon- trolle	Coli 34 tr c v. 21. II.	Coli 34 tr c v. 28. II.	Coli 34 tr c v. 15. III.
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	komplett
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	"
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	"
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	0	"
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	wenig	"
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	komplett	"
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	"	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	"	"	"	"
	0,2			0,5	0	"	"	"

Dabei zeigte sich, wie aus Tabelle IV hervorgeht, daß beim Coli 34 tr c bis zum 21. II. eine Veränderung nicht zu konstatieren war. Am 28. II. finden wir bereits eine Abnahme der ablenkenden Eigenschaften, schließlich gibt ein am 15. III. hergestellter Extrakt keine Komplementbindung mehr. Dieselbe Umzüchtung wiederholten wir mit demselben Colistamm noch zweimal (Coli 34 tr c₂, Coli 34 tr c₃). Es trat jedesmal dieselbe Erscheinung des Verlustes des ursprünglichen Rezeptorenapparates auf. In wie kurzer Zeit übrigens die Veränderung dem Anschein nach vor sich geht, zeigt das Resultat der in Tabelle V veranschaulichten Umzüchtungsversuche des Coli 7 tr c, aus dem ein Extrakt am 28. V. bereitet, noch deutliche starke Komplementbindung gibt, während ein Extrakt vom 31. V. in Verbindung mit demselben Immunserum keinerlei Hemmung der Hämolyse bewirkt (mehrfache Untersuchungen).

Tabelle V.

Ser. Kan. 18 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin- extrakt verdünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:5	Hämolytisch. Ambozeptor verd. 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von Extrakt aus		
					Kontrolle (Coli 7 tr)	Coli 7 tr c v. 28. V.	Coli 7 tr c v. 31. V.
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	fast kpl.
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	komplett
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	"
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	"
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Spürchen	"
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	stark	stark	"
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	"	"
	0,2			0,5			

Man könnte hier fast den Eindruck einer sprunghaften unvermittelt auftretenden Veränderung haben, wenn uns nicht weitere Versuche über den Mechanismus dieser Umwandlung aufgeklärt hätten.

Mit einem unserer Karbolstämme Coli 34 tr c₂ stellten wir zu verschiedenen Zeiten der Züchtung auf Karbolagar Immunsera her, und zwar das eine etwa 1 Monat nach voll-

ständig vollendeter Umwandlung, das andere 4 Tage vor derselben, als der Stamm gerade noch eine ganz schwache Komplementbindung mit dem ursprünglichen Originalserum gab. Das erste Immunserum bezeichnen wir mit Serum Kaninchen 51, das zweite mit Serum Kaninchen 42. Wie zu vermuten war, gibt Serum Kaninchen 51 nur mit dem Karbolstamme deutliche, bis in erhebliche Verdünnung nachweisbar Komplementbindung, und zwar gleichmäßig mit den drei zu verschiedenen Zeiten auf Karbolagar umgezüchteten Stämmen (Coli 34 tr c, c₂, c₃), nicht dagegen mit dem ursprünglichen unveränderten Stamme (Tabelle VIa und VIb). Desgleichen nicht mit einer Anzahl der Sammlung entnommener Colistämme. Anders dagegen verhält sich Serum Kaninchen 42. Hier erhalten wir sowohl mit dem Agar als auch mit dem Karbolstamm starke Komplementbindung, was nicht wunderbar erscheint, da ja der zur Immunisierung verwandte Stamm die zu beiden Antikörpern passenden Rezeptoren enthielt.

Tabelle VIa.

Kaninchen 51 erhielt von $\frac{1}{2}$ Stunde bei 60° abgetöteter Agarkultur von Coli 34 c₁:

- | | |
|-------------------------------------|---------------|
| 1) am 24. II. 10 $\frac{1}{8}$ Oese | } intravenös. |
| 2) „ 3. III. 10 $\frac{1}{4}$ „ | |
| 3) „ 10. III. 10 $\frac{1}{2}$ „ | |
| 4) „ 18. III. 10 $\frac{1}{2}$ „ | |

Entblutet am 25. III.

Ser. Kan. 51 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 cem aufgefüllt	Antiformin- extrakt verdünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:5	Häm. Amb. verd. 1:400	Hämoglobin 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Ver- wendung von Extrakt aus			
					Coli 34 tr	Coli 34 tr c ₁	Coli 34 tr c ₂	Coli 34 tr c ₃
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	0	0	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	„	0	0	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	„	0	0	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	„	0	0	Spur
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	„	Spürch.	Spürch.	stark
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	„	stark	stark	fast kpl.
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	„	komplett	komplett	komplett
	0,2	0,1	0,1	0,5	„	„	„	„
	0,2			0,5	0	0	0	0

Tabelle VIb.

Ser. Kan. 56 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiformin- extrakt verdünnt 1:2	Meersch.- Serum verdünnt 1:5	Hämol. Amb. verd. 1:400	Hammelblut 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Ver- wendung von Extrakt aus			
					Coli 34 tr	Coli 34 tr c ₁	Coli 34 tr c ₂	Coli 34 tr c ₃
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	komplett	fast kpl.	komplett
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	"	komplett	"
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	"	"	"
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	"	"	"
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	"	"	"
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	Spur	"	"	"
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	"	"	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	"	"	"	"
	0,2			0,5	0	0	0	0

Es fragte sich nun, wie sich die neu gebildeten Rezeptoren bei weiterer Züchtung auf Karbolagar sowie auf gewöhnlichem Agar verhalten würden. Einesteils wäre es möglich, daß bei fernerer Einwirkung des Phenols auch weitere Umwandlungen der neu gebildeten Rezeptorenart stattfinden würden. Andererseits war es denkbar, daß bei einem Zurückbringen auf Agar auch der alte Rezeptorenapparat wieder zurückkehren würde. Beides war nicht der Fall. Der einmal veränderte Stamm blieb sowohl auf Karbolagar als auch auf gewöhnlichem Agar bei vielwöchiger Passage in seinem serologischen Verhalten gleich. Auch Versuche durch Züchtung in Bouillon, sowie in Bouillon mit einem Zusatz des ursprünglichen Immunsersums, welches den Zweck haben sollte, durch Besetzung eventuell noch vorhandener serologisch zwar nicht mehr nachweisbarer ursprünglicher Rezeptoren, eine Neubildung dieser anzuregen, blieben erfolglos. Dagegen zeigte sich auch hier das Prinzip des Arbeitens mit Einzelindividuen, gewonnen durch weitgehende Spaltung der Kulturen, zum Verständnis des Mechanismus der Umwandlung außerordentlich fruchtbringend, zumal uns ja jetzt Antisera gegen Original- und Karbolstamm und somit die Möglichkeit des Nachweises der beiden verschiedenen Rezeptoren zur Verfügung standen.

Wir konnten durch Spaltung zunächst nachweisen, daß sämtliche Abkömmlinge (wir prüften gewöhnlich 12 Einzelkulturen) des gänzlich veränderten Colistammes sich

serologisch gleich verhielten, d. h. nur mit Serum Kaninchen 51 reagierten, ebenso wie wir ja früher dasselbe für den Originalstamm bezüglich Serum Kaninchen 56 nachgewiesen haben.

Besonders instruktiv aber waren die Spaltungen noch nicht völlig veränderter Stämme, die natürlich während der Zeit der jetzt zu beschreibenden Versuche auf gewöhnlichem Agar fortgezüchtet wurden.

Tabelle VII a.

Ser. Kan. 56 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Anti- formin- extrakt verdünnt 1 : 2	Meer- schw.-Ser. aktiv, verdünnt 1 : 2	Hämol. Amboz. verdünnt 1 : 400	Hammel- blut 5 Proz.	Eingetretene Hämol. bei Verwendung von	
					Coli 34 tr c ₃ v. 13. IV.	Coli 34 tr c ₃ v. 15. IV.
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	0	stark
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	0
	0,2			0,5	0	0

Tabelle VII b.

Ser. Kan. 51 inaktiv, auf- gefüllt mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm	Anti- formin- extrakt verdünnt 1 : 2	Meer- schw.-Ser. aktiv, verdünnt 1 : 5	Hämol. Amboz. verdünnt 1 : 400	Hammel- blut 5 Proz.	Eingetretene Hämol. bei Verwendung von	
					Coli 34 tr c ₃ v. 13. IV.	Coli 34 tr c ₃ v. 15. IV.
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	wenig	0
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	mäßig	wenig
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	stark	mäßig
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	komplett
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	0
	0,2			0,5	0	0

Als solche zeigt uns Tabelle VII a und b Coli 34 tr c₃ vom 13. IV. (nach 44-tägiger Züchtung auf Karbolagar) und Coli 34 tr c₃ vom 15. IV. (nach 46-tägiger Züchtung auf Karbol-

agar). Bei diesen Stämmen, die wir mit unserem Originalserum noch nicht als verändert erkannt haben würden, da sie mit demselben, wie aus Tabelle VIIa hervorgeht, starke Komplementbindung geben, können wir bereits mit Serum 51 (Tabelle VII b) das Resultat der durch Anpassung bewirkten Umwandlung konstatieren. Diese Reaktionsfähigkeit des Stammes mit beiden Seren kann nun einmal darin ihren Grund haben, daß sich in der Kultur Individuen befinden, von denen der eine Teil mit dem ursprünglichen Rezeptor, den wir Re-

Tabelle VIII a.

Ser. Kan. 56 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Anti- formin- extrakt verdünnt 1 : 2	Meer- schw.-Ser. aktiv, verdünnt 1 : 5	Hämol. Amboz. verdünnt 1 : 400	Hammel- blut 5 Proz.	Eingetretene Hämol. bei Verwendung von Extrakten aus Zweigstämmen von Coli 34 tr c ₃ vom 15. IV.				
					1	2	3	4	5
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	fk	fk	0	0	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	0	0	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	0	0	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	0	0	0
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	0	Spch	0
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	w	fk	st
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	k	k	k
	0,2	0,1	0,1	0,5	k	k	k	k	k
	0,2			0,5	0	0	0	0	0

Tabelle VIII b.

Ser. Kan. 51 inaktiv, mit physiologisch. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Anti- formin- extrakt verdünnt 1 : 2	Meer- schw.-Ser. aktiv, verdünnt 1 : 5	Hämol. Amboz. verdünnt 1 : 400	Hammel- blut 5 Proz.	Eingetretene Hämol. bei Verwendung von Extrakten aus Zweigstämmen von Coli 34 tr c ₃ vom 15. IV.				
					1	2	3	4	5
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	k	fk	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	k	k	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	0	k	k	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Spch	k	k	st
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	Spch	fk	k	k	k
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	fk	k	k	k	k
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	k	k	k	k	k
	0,2	0,1	0,1	0,5	k	k	k	k	k
	0,2			0,5	0	0	0	0	0

k = komplett, fk = fast komplett, st = stark, Spch = Spürchen.

zeptor A benennen wollen, der andere mit dem neugebildeten Rezeptor (B) ausgerüstet ist. Daneben werden wir aber auch erwarten müssen, auf solche Keime zu stoßen, die in der Differenzierung noch nicht soweit gelangt sind, einen einheitlichen Rezeptorentyp herauszubilden, sondern die über beide Arten verfügen. Die Tabelle VIII a und b zeigt uns das Verhalten einiger durch Spaltung aus dem Stamme Coli 34 tr c₃ vom 15. IV. gewonnenen Zweigstämme, die, von Einzelkolonien abgestochen, als aus Einzelindividuen hervorgegangen zu betrachten sind. Wir haben in Kolumne 1 und 2 Keime mit dem Rezeptor A, in 3 und 4 Keime mit dem Rezeptor B, daneben sehen wir in Kolumne 5 einen mit beiden Rezeptoren ausgerüsteten Stamm. Was besonders auffiel, war, daß sich in dem 2 Tage älteren Karbolstamm bereits erheblich mehr mit dem Karbolrezeptor ausgestatteter Keime, als in dem vom 13. IV. vorhanden.

Bemerkenswert ist übrigens das Bestreben unserer Coli-bacillen, zu einem möglichst einheitlichen Rezeptorenapparat zu gelangen, und die Zähigkeit, mit welcher an dem einmal herausgebildeten Typ, wenn kein Anstoß zu andersartiger Differenzierung erfolgt, festgehalten wird. So können wir bei weiterer Spaltung der Zweigstämme deutlich verfolgen, daß aus einem Einzelindividuum mit dem Rezeptoren A und B wiederum vorzugsweise Keime hervorgehen, deren Rezeptorenausrüstung einheitlich ist, d. h. entweder A oder B, neben ganz wenigen Keimen, die noch über beide verfügen. Es wird dies davon abhängen, wie im Augenblicke der Teilung die Rezeptorenverteilung auf dem Bakterium ist. Stellen wir uns unter Benutzung des Ehrlichschen Schemas vor, daß sich auf der einen Hälfte das Bakterium wesentlich Rezeptoren A, auf der anderen wesentlich Rezeptoren B entwickelt haben, so würde die Weiterentwicklung dieses Bakteriums bei der Teilung zu 2 Einzelindividuen führen, von denen das eine vorzugsweise den Rezeptor A, das andere in der Hauptsache den Rezeptor B enthält. Beide würden dann, da, wie wir gefunden haben, das Bestreben auf Einheitlichkeit im Rezeptorenapparat gerichtet ist, den in der Ueberzahl mitbekommenen Rezeptor weiterbilden, während der andere eingeht. Wir konnten dies experimentell nachweisen.

Tabelle IX.

Serum inakt., mit physiol. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiforminextr. aus einem Zweig- stamm v. Coli 34 tr c ₃ 5 (s. Tab. VIII) bez. als Coli 34 tr c ₃ 5 (1) verd. 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:5	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Hämoglobin 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von	
					Serum Kan. 56	Serum Kan. 51
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Spürchen
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	0	Spur
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	0	stark
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	0	komplett
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	0	"
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	Spürchen	"
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	"

Tabelle X.

Serum inakt., mit physiol. NaCl-Lösung zu 0,5 ccm aufgefüllt	Antiforminextr. aus einem Zweig- stamm v. Coli 34 tr c ₃ 5 bezeichnet als Coli 34 tr c ₃ 5 (2) verdünnt 1:2	Meersch.- Serum aktiv, verdünnt 1:5	Häm. Ambo- zeptor ver- dünnt 1:400	Hämoglobin 5 Proz.	Eingetretene Hämolyse bei Verwendung von	
					Serum Kan. 56	Serum Kan. 51
0,05	0,1	0,1	0,1	0,5	Spürchen	0
0,025	0,1	0,1	0,1	0,5	"	0
0,015	0,1	0,1	0,1	0,5	Spur	0
0,01	0,1	0,1	0,1	0,5	stark	0
0,005	0,1	0,1	0,1	0,5	fast komplett	0
0,002	0,1	0,1	0,1	0,5	komplett	Spur
0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	"	komplett
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	"
	0,2	0,1	0,1	0,5	0	"

Haben wir z. B., wie in Tabelle IX, einen Stamm vor uns, erhalten durch Spaltung aus dem in Tabelle VIII, Kolumne 5 dargestellten Zweigstamm Coli 34 tr c₃ (5) von Coli 34 tr c₃ vom 15. IV., den wir mit Coli 34 tr c₃ (5) (1) bezeichnen wollen, aus dessen Verhalten zu Serum Kaninchen 56 und Serum Kaninchen 51 wir annehmen können, daß er aus einem Keim hervorgegangen ist, der in der Hauptsache den Rezeptor A besaß, während der Rezeptor B, wie aus der sehr schwachen Reaktion mit Serum Kaninchen 51 hervorgeht, nur in ganz geringer Anzahl vorhanden war, so können wir nach kurzer Zeit feststellen, daß sämtliche Spaltungsprodukte dieses Stammes nur noch mit Rezeptor A ausgerüstet sind. Daß dies nicht etwa darin seinen Grund hat, daß wir bei der doch

immerhin beschränkten Anzahl der von uns zur Untersuchung abgestochenen Kolonien zufällig Kolonien vom Typ Rezeptor B nicht unter die Finger bekommen haben, zeigt das Verhalten des weiter auf Agar fortgezüchteten, ungespaltenen Stammes (der also sämtliche Rezeptoren erhalten müßte) und der jetzt nur noch mit Serum Kaninchen 56 Komplementbindung gibt. Auf der anderen Seite haben wir in Tabelle X einen Stamm vor uns, der ebenfalls durch Spaltung aus Coli 34 tr c₃ vom 15. IV. gewonnen ist und der im Gegensatz zum vorigen fast ausschließlich den Rezeptor B besitzt. Hier gehen schon bei weiterer Fortzucht auf Agar die wenigen Rezeptoren A zugrunde, so daß wir schließlich wieder einen einheitlichen Rezeptorenapparat, in diesem Falle vom Typ B, vorfinden.

Wir haben jetzt auch eine Vorstellung davon, wie der Mechanismus der Veränderung bei weiterer Fortzucht dieser Karbolstämme auf Karbolagar (anstatt auf gewöhnlichem Agar) ist. Wir finden dann bei unseren Spaltungen immer weniger Individuen, die mit dem ursprünglichen Rezeptor, dagegen immer mehr, die mit dem neugebildeten Rezeptor ausgerüstet sind, bis schließlich nur noch die letzteren gefunden werden. Die Anpassung an die veränderten Lebensbedingungen ist so mit der Ausbildung eines zweckmäßigen und dem Eingehen einer unzweckmäßigen Rezeptorenausrüstung vollendet. Von einer sprunghaft auftretenden Veränderung kann somit nicht die Rede sein. Es findet vielmehr ein allmählicher Uebergang von dem einen zum anderen Typ statt.

Nebenbei bemerken möchten wir, daß es für die Herstellung eines Immunserums gegen den neuen Karbolstamm wichtig ist, damit solange zu warten, bis wenigstens 2—3 Wochen lang der mit dem ursprünglichen Serum nicht mehr reagierende Karbolstamm weiter auf Karbolagar fortgezüchtet ist und zahlreiche Spaltungen das Nichtvorhandensein von Individuen mit alten Rezeptoren erwiesen haben.

Wir können also dahin resumieren, daß wir durch Züchtung auf karbolhaltigem Nähragar beim Bacterium coli Veränderungen hervorgerufen haben, die, feinsten chemischer Natur, sich nur mit Hilfe der Immunitätsreaktionen nachweisen lassen. Diese Veränderung, die wir als

funktionelle Anpassungen (Pringsheim¹⁾) zu deuten haben, sind am Rezeptorenapparat lokalisiert. Sie sind bleibend und auf Generationen vererbbar.

Dem Verständnis des Mechanismus dieser Veränderung kommen wir näher, wenn wir uns die auf Grund der Anpassungsfähigkeit der Trypanosomen an Antikörpern sowie an Arsenikalien entwickelten Ehrlichschen Anschauungen zu eigen machen.

Bekanntlich erklärt Ehrlich die Giftfestigkeit der Trypanosomen durch gewisse Veränderungen bestimmter bindender Molekülgruppen: der Chemozeptoren, die erst durch Verankerung der Giftstoffe die Giftwirkung auf das Trypanosom vermitteln. Während er nun bei den arsenfesten Trypanosomenstämmen nur eine Veränderung der Chemozeptoren im Sinne einer Aviditätsverminderung annimmt, glaubt er es bei den serumfesten Stämmen mit einem völligen Verlust dieser Chemozeptoren zu tun zu haben.

Da diese Chemozeptoren zu gleicher Zeit als Nutrizzeptoren anzusehen sind, so muß es bei einem Verlust dieser der Verankerung der Nährstoffe dienenden Gruppen zur Neubildung anderer Nutrizzeptoren kommen, die bei gleicher Affinität zu den Nährstoffen eine geringere Bindungsfähigkeit für diejenigen Giftstoffe haben, die zu einem Eingehen des ursprünglichen Rezeptorenapparates geführt haben.

Dasselbe haben wir bei unseren der Einwirkung der Karbolsäure ausgesetzten Colistämmen vor uns. Auch hier sucht sich das Bakterium seiner Chemozeptoren, die für Karbolsäure mit einer mehr oder minder großen Affinität ausgestattet, durch die Verankerung des Giftes das Leben des Individuums zerstören würden, dadurch zu entledigen, daß es dieselben eingehen läßt und neue Ernährungsrezeptoren mit geringerer Affinität für Karbolsäure heranbildet. Diese Rezeptoren, die, wie wir gesehen haben, allmählich gebildet werden, übernehmen nach und nach die Funktionen der alten, die in dem Maße, wie die Neubildung fortschreitet, verschwinden.

Neben dieser Neubildung zweckmäßiger Rezeptoren müssen wir übrigens ebenso, wie es Ehrlich für seine arsenfesten

1) l. c.

Trypanosomenstämme annimmt, an eine einfache Aviditätsverminderung bindender Gruppen bei unseren Colistämmen denken, denn noch bevor es zur Heranbildung der neuen Rezeptoren kommt, findet ja schon eine Gewöhnung der Colibacillen an den Giftstoff statt. Außerdem ist es uns auch bei dem dritten unserer Stämme (Coli 2) trotz langdauernder Fortzüchtung auf Karbolagar bisher nicht gelungen, dieselben Veränderungen im Rezeptorenapparat, wie wir sie bei den anderen Stämmen beliebig oft erzeugen können, hervorzurufen.

Wir müssen annehmen, daß Coli 2 im Gegensatz zu Coli 7 und Coli 34 bereits von vornherein im Besitze eines Rezeptors ist, der die Zweckmäßigkeit unserer experimentell erzeugten Karbolrezeptoren besitzt. Es liegt für das Individuum also keine Notwendigkeit vor, eine Veränderung im Chemozeptorenapparat anzustreben.

Daß diese Vorstellung berechtigt ist, zeigen uns ferner Beobachtungen, die wir gelegentlich der Züchtung unserer Stämme in Bouillon zu machen Gelegenheit hatten. Wir konnten da nämlich nachträglich feststellen, daß diejenigen aus den Bouillonkulturen isolierten Stämme, die, wie wir oben ausführlich dartaten, sich mit dem Originalserum als verändert erwiesen, deutlich mit dem Karbolserum Komplementbindung gaben. Es ist wohl nicht von der Hand zu weisen, daß in diesem Falle der Einfluß des vom Colibacillus in Bouillon gebildeten Indols, das ja dem Phenol chemisch nahe steht (vielleicht auch anderer Stoffwechselprodukte) dieselben Veränderungen hervorgerufen hat wie der künstliche Karbolzusatz zum Nährboden.

Ein bereits in diesem Sinne veränderter Stamm wird natürlich eine weitere Veränderung bei Züchtung auf Karbolagar nicht mehr erfahren. Da nun wohl im Darm dauernd ähnliche Veränderungen vor sich gehen wie in unseren Bouillonkulturen, so können wir dem Coli 2 einen bezüglich des Phenols zweckmäßig gebildeten Rezeptorenapparat vindizieren.

Des weiteren sprechen für diese Anschauung Befunde, die, noch nicht zum Abschluß gelangt, erst nach Beendigung unserer weiter fortgeführten Untersuchungen ausführlich zu besprechen sein werden. Zur Stütze unserer Anschauung möchten wir nur so viel mitteilen, daß es uns gelungen ist,

auch durch Züchtung auf Nährböden mit einem Zusatz von arseniger Säure resp. mit Brillantgrün weitere Varietäten unserer Colistämme zu erzeugen.

Auch hierbei ist uns das ungleiche Verhalten der Stämme diesen Giften gegenüber aufgefallen. Während sich Coli 2 und Coli 7 auf arseniger Säure sehr schnell veränderten, ist dies beim Coli 34 bei weit längerer Dauer der Züchtung bisher nicht der Fall.

Von besonderem Interesse aber wird einerseits das Verhalten der Karbol-Arsen-Brillantgrünstämmen zueinander, sowie das Verhalten bereits veränderter Stämme bei Züchtung auf andersartigen Giften sein. Wir möchten uns diese weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Diskutieren wollen wir hier nur noch die Frage, ob es möglich wäre, auf diese Weise beliebig viele Varietäten zu erzeugen. Wir glauben, daß dies nicht der Fall sein wird. vielmehr stellen wir uns vor, daß dem Colibacillus, wie wahrscheinlich auch jedem Saprophyten, eine gewisse Zahl von Variationsmöglichkeiten im Rezeptorenapparat zur Verfügung steht. Es ist deshalb durchaus möglich, daß trotz dauernder Veränderung der im Darm befindlichen Colistämme, die wir nach unseren in der Einleitung kurz mitgeteilten Untersuchungen für erwiesen erachten müssen, ein gewisser Zyklus dieser Veränderung zu konstatieren wäre, so daß wir eine zu irgendeiner Zeit im Darm vorgefundene Coliart nach deren Verschwinden eventuell nach Monaten wieder vorfinden können. Einen sicheren Beweis für unsere Anschauung können erst unsere weiter fortgeführten Untersuchungen erbringen.

Zum Schlusse müssen wir noch ganz kurz auf eine Erklärung dieser auf dem Wege der Komplementbindungsreaktion nachgewiesenen Veränderung eingehen. Man könnte sich in Analogie mit der durch Jodierung, Nitrierung etc. hervorgerufenen Aenderung der Zustandsspezifität des Eiweißmoleküls, das zur Bildung eines spezifischen und von dem ursprünglichen Eiweißmolekül durch Präzipitierung und Komplementbindung zu differenzierenden Antikörpers führt, vorstellen, daß es bei der Züchtung von Bakterien auf Karbolagar zur Bildung einer Karboleiweißverbindung kommt, die dann zur Auslösung spezifisch auf diese Verbindung wirkender Antikörper führt.

Daß davon keine Rede sein kann, geht aus folgendem hervor:

1) erfolgte die Herstellung des Immunserums erst nach einer Passage des Stammes auf gewöhnlichem Agar;

2) sind die als Antigene verwendeten Extrakte ebenfalls erst nach Passage auf gewöhnlichem Agar hergestellt und auch ohne den nachträglichen konservierenden Zusatz von Karbol, wie wir in einer Reihe von Versuchen nachgewiesen haben, wirksam. Die allerdings etwas stärkere Wirksamkeit der karbolisierten Extrakte ist auf die an sich etwas stärkere antikomplementäre Eigenschaft phenolisierter Extrakte zurückzuführen. Nicht unwesentlich ist

3) auch die Tatsache, daß lange Zeit mit Karbol versetzte Extrakte des unveränderten Stammes ihre Reaktionsfähigkeit mit dem ursprünglichen Immunserum nicht verändern.

Zusammenfassung.

1) Das mit einem Colistamme hergestellte Immunserum wirkt bezüglich Agglutination und besonders bezüglich Komplementbindung im wesentlichen nur gegen den homologen Stamm, schwächer oder gar nicht gegen heterologe Stämme.

2) Eine monatelange Passage über Agar verändert die Reaktionsfähigkeit des Stammes gegenüber diesem Serum nicht.

3) Colistämme lassen sich häufig in Stämme mit etwas verschiedener Koloniebildung zerlegen. Diese Derivate verhalten sich serologisch wie der Ausgangsstamm.

4) Durch Passage über Karbolagar läßt sich eine vollständige Aenderung der Reaktionsfähigkeit gegenüber dem Ausgangsserum erreichen.

5) Der serologisch vollständig veränderte Stamm ist bis auf die Karbolresistenz kulturell vom Ausgangsstamm nicht zu unterscheiden.

6) Das mit dem serologisch völlig veränderten Karbolstamm hergestellte Immunserum ist ohne Wirkung auf den Ausgangsstamm, gibt also nur mit dem Karbolstamm Komplementbindung.

7) Diese Veränderung des Rezeptorenapparates durch Karbolagarpassage ist bei einem Stamme dreimal und bei einem anderen Stamme einmal hervorgerufen worden.

8) Spaltungen der vollständig veränderten Karbolstämmen verhalten sich unter sich serologisch vollständig gleichartig.

9) Wenn die vollständige Umwandlung durch Karbolpassage eingetreten ist, bleibt sie auch bei weiter dauernder Passage über gewöhnlichem Agar konstant. Ebenso wenig tritt eine weitere Veränderung bei weiterer Karbolpassage ein.

10) Bevor die vollständige Umwandlung eingetreten ist, reagieren solche Stämme sowohl mit dem Serum des Ausgangsstammes wie mit dem Serum des Karbolstammes. Ebenso ist mit einem solchen Stamme im Uebergangsstadium ein Serum herzustellen, welches auf den Ausgangsstamm und auf den umgewandelten Karbolstamm wirkt.

11) Die Spaltungen eines solchen im Uebergangsstadium befindlichen Stammes verhalten sich unter sich nicht gleichartig; ein Teil von ihnen reagiert nur mit dem Serum des Ausgangsstammes, ein Teil nur mit dem Serum des völlig umgewandelten Stammes und ein Teil schließlich mit beiden Seren.

12) Die in Bouillon einige Zeit fortgezuchteten Stämme zeigen im Gegensatz zur Agarpassage eine Spontanveränderung ihres Rezeptorenapparates, indem sie schwach oder gar nicht mit dem Serum des Ausgangsstammes reagieren, wohl aber wurde bei einigen Komplementbindung mit dem Serum des Karbolstammes konstatiert. Es wird diese Spontanveränderung mit der normalen Produktion von Indol etc. erklärt.

13) Auch durch Züchtung auf arsenhaltigen Nährböden wurden komplette Aenderungen des Rezeptorenapparates erzielt.

14) Ob diese Variationsfähigkeit unbegrenzt ist oder ob die Zahl der Variationsmöglichkeiten eine begrenzte ist, so daß eine Wiederkehr schon beobachteter Rezeptoren eintritt, bleibt weiteren Versuchen vorbehalten.

15) Erst die Beantwortung dieser Frage läßt eine Entscheidung zu, ob die gleichzeitig in einem Individuum vorhandenen, serologisch verschiedenen Colistämme primär verschiedene oder primär gleichartige Rezeptorenapparate besitzen.

Nachdruck verboten.

[From the Danish State Serum Institute.]

The Behaviour of Megatheriolysin towards Heat.By **E. E. Atkin.**

With 3 Charts.

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. Juli 1910.)

There are now a number of experiments published relating to the effect of heat on simple haemolysins, in which the rate of destruction has been found to increase with the temperature. But there are others which behave in a curious manner amongst them being staphylolysin and megatheriolysin. It has been asserted that some of them, when heated at a high temperature (about boiling point) partially regain the haemolytic power they have lost at a medium temperature (60—70°). Some experiments demonstrating this, in the case of staphylolysin were performed at the Danish State Serum Institute some time ago. I have, however, not been able to obtain the same results, my experiments with staphylolysin showing a regular increase of the rate of destruction, with rise of temperature. This serves to emphasize, what is now coming to be appreciated, namely how manifold are the factors at work in such experiments; and that because on one occasion, with a certain bouillon culture we obtain one result, it does not follow that such will necessarily be the case with another culture, although apparently prepared in the same manner. Some peculiarity however in the behaviour of megatheriolysin to heat seems to have been so generally found that it seemed desirable a series of curves representing destruction at various temperatures should be compared, especially as none such had appeared in the literature previously. With this intent a bouillon culture of the megatherium bacillus was prepared from the laboratory strain, by growing for about 3 weeks at 37°. The bouillon contained 1½ % pepton, and an excess of alkali (7 c. c. normal NaOH pr. litre). After the experiments the culture was found to be slightly acid to litmus. It was

preserved by adding toluol, and keeping in an ice safe. No perceptible diminution in lytic strength occurred during the experiments. The haemolytic estimations were carried out in the usual way employed at the Institute. Washed goat erythrocytes were used as being the most convenient for the action of megatheriolysin. They were incubated for $2\frac{1}{2}$ hours with the lysin; then the tubes were shaken and examined next day by the colorimetric method.

A few words of criticism on the technique are necessary. In my experiments, in a set of tubes containing decreasing quantities of megatheriolysin the haemolysis tails off towards the upper end of the series which contains the large doses, as well as at the lower end, although only partially. Therefore I have taken a tube as standard showing about 30—40 % haemolysis, which lies within a zone of the series where the proportion seems to hold. Irregularities, obviously due to experimental errors are rather common, more so than happens in the case of vibriolysin. Again the incubation time of $2\frac{1}{2}$ hours may not be the optimum, but there is reason to think the error from this cause, can only be slight. These defects in the technique however are not sufficient to materially affect the results of the experiments.

Samples of 100 c. c. of megatheriolysin have been heated in a water bath at different temperatures for 2 hours, small amounts being removed from time to time and immediately cooled. In order to raise the lysins to the temperature to be investigated they have been placed in a separate water bath of similar temperature so as not to disturb the equilibrium of the other, thus ensuring a constant temperature during the early part of the heating.

Temperatures ranging from $36,8^{\circ}$ to $94,6^{\circ}$ have been taken, 15 in all. A curious phenomenon has shown itself. Destruction of the haemolysin increases with the temperature up to about 55° ; further increase of temperature is accompanied by diminishing destruction until about 75° is reached, and then again it increases as far as $94,6^{\circ}$, the highest temperature tested, and probably afterwards to extinction. Boiling point and temperatures above are impracticable with the technique

employed. I have nevertheless boiled the lysin for half an hour without return of haemolytic power.

The curves have been separated into three groups corresponding with the above mentioned phases. Each curve has

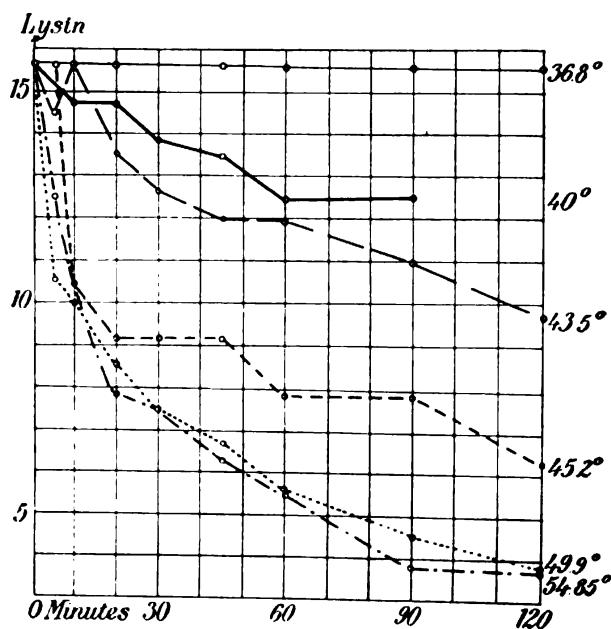


Chart I.

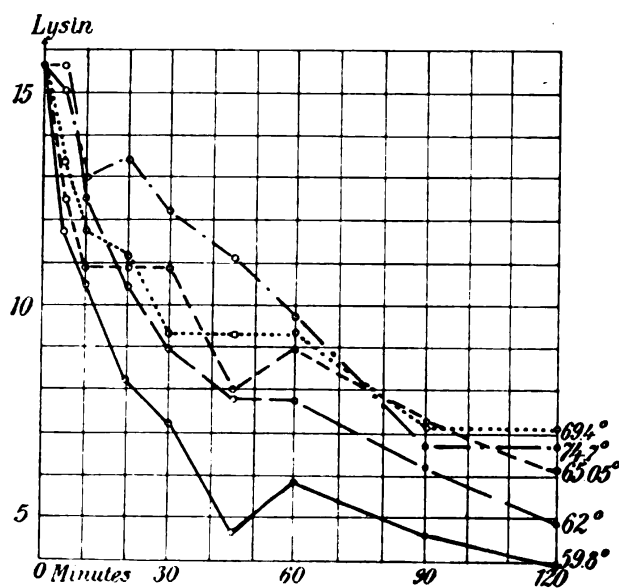


Chart II.

been placed so as to start from the same point and each of the three charts is drawn to the same scale so that all the curves are comparable. It will be seen that the first curve, $36,8^{\circ}$ shows no destruction whatever in the allotted time.

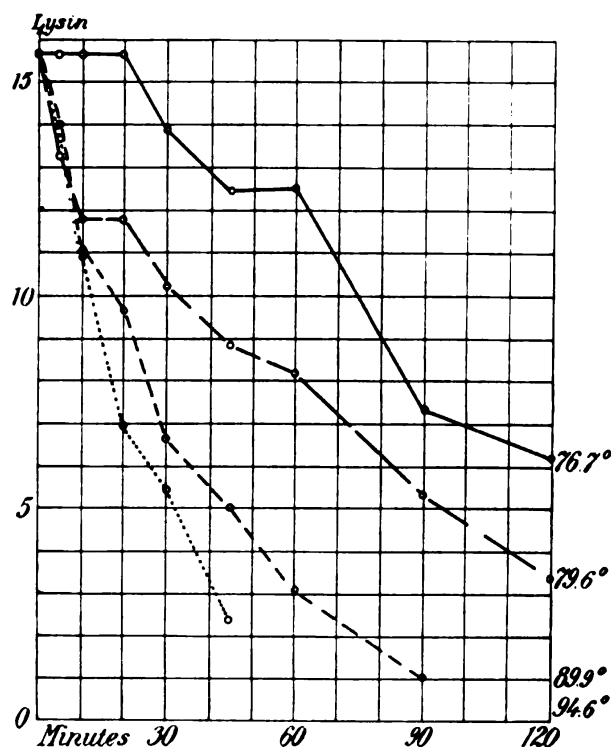


Chart III.

It was just possible however that there might be a small amount, for although this is practically the temperature of incubation of the culture, the formation of lysin during bacterial growth might be the overwhelming excess of production over destruction.

The rather large irregularities in some of the curves are certainly due to experimental errors. A good instance is seen in chart II curve $59,8^{\circ}$, where the determination at 45 minutes is obviously an error, and if drawn without this the curve would be a very regular one.

Table.

Duration of Heating Minutes	Volumes of Megatheriolysin giving equal Haemolysis													
	40°	43,5°	45,2°	49,9°	54,85°	59,8°	62°	65,05°	69,4°	74,7°	76,7°	79,6°	89,9°	94,6°
0	0,08	0,13	0,1	0,115	0,2	0,3	0,8	0,4	0,3	0,25	0,4	0,17	0,17	0,35
5	—	0,14	0,1	0,17	0,25	0,4	0,8	0,5	0,35	0,26	0,4	0,2	0,19	0,4
10	0,085	0,13	0,15	0,18	0,3	0,45	1,0	0,575	0,4	0,3	0,4	0,225	0,24	0,5
20	0,085	0,15	0,17	0,21	0,4	0,575	1,2	0,575	0,42	0,29	0,4	0,225	0,275	0,8
30	0,09	0,16	0,17	0,24	0,42	0,65	1,4	0,575	0,5	0,32	0,45	0,26	0,4	1,0
45	0,0925	0,17	0,17	0,275	0,5	1,0	1,6	0,78	0,5	0,35	0,5	0,3	0,525	2,25
60	0,1	0,17	0,2	0,32	0,575	0,8	1,6	0,7	0,5	0,4	0,5	0,325	0,85	—
90	0,1	0,185	0,2	0,4	0,83	1,0	2,0	0,85	0,65	0,575	0,85	0,5	2,5	—
120	—	0,21	0,25	0,475	0,85	1,2	2,5	1,0	0,65	0,575	1,0	0,78	—	—

Upon the cause of this anomalous behaviour of megatheriolysin under the influence of heat, it is not opportune to speculate until many more facts are to hand. Dr. Madsen has kindly gone over the determinations and finds that they do not conform to a monomolecular formula, showing that the process of destruction is probably complex. An extensive field for research is here opened up, prominent in which are the production of antilysin in animals by lysins destroyed to different extents, and the mode of neutralisation etc.

In conclusion I wish to express my thanks to Dr. Thorvald Madsen for his kind advice and interest in this research.

Zusammenfassung.

Die Geschwindigkeit der spontanen Zersetzung von Megatheriolysin nimmt mit der Temperatur zu bis zu 55° C. Danach nimmt sie mit steigender Temperatur ab bis 75° erreicht sind und danach wieder zu bis zum Siedepunkt.

Nachdruck verboten.

Anaphylaxie und Komplement.

Ein Wort zur Richtigstellung und Kritik.

Von Dr. J. G. Sleeswijk.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. Juli 1910.)

Nicht zur näheren Begründung meines Standpunktes (der ist aus meinen Publikationen für jeden, der lesen kann und will, deutlich genug), sondern hauptsächlich nur, um einen unrichtigen Eindruck wegzunehmen, ergreife ich nochmals — und in dieser Materie hoffentlich zum letzten Male — das Wort.

In einer Fußnote zu einer Arbeit von Friedberger und Goldschmid (diese Zeitschr., Bd. 6, Heft 2 u. 3, p. 299) lese ich: „Indem Weichardt neuerdings (Münchener med. Wochenschr., 1910, No. 17) hier Sleeswijk die Priorität zuweist, scheint er ganz übersehen zu haben, daß ja Sleeswijk gerade einen Zusammenhang zwischen Komplementschwund und Anaphylaxie leugnete und erst in seiner jüngsten Veröffentlichung, mit unserer Methode arbeitend (diese Zeitschr., Bd. 5), anerkennt.“

Nun habe ich über dieses Thema, wie bekannt, zwei Arbeiten veröffentlicht (diese Zeitschr., Bd. 2, Heft 2 und Bd. 5, Heft 5), und in der zweiten habe ich absichtlich die betreffenden Stellen aus meiner ersten Arbeit wörtlich wiederholt, nämlich:

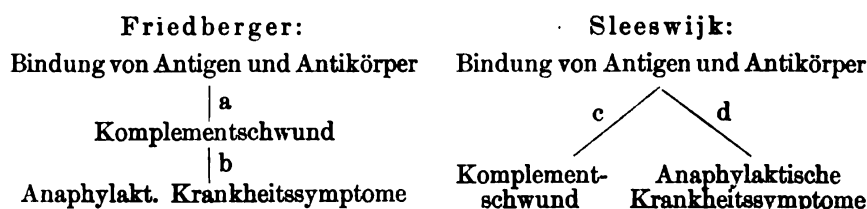
I. „Als Resultat des anaphylaktischen Reaktionsprozesses zeigt sich im Serum intoxizierter Tiere Alexinschwund.“ (Unter „der anaphylaktische Reaktionsprozeß“ verstehe ich natürlich die Bindung von Antigen und Antikörper.)

II. Aus der Tatsache, daß die Verminderung des Komplements nicht mit den anaphylaktischen Symptomen parallel zu gehen braucht, habe ich den Schluß gezogen, „daß die

43*

Vergiftungserscheinungen nicht die Folge des Alexinverlustes sind, sondern daß es zwei Prozesse sind, nicht direkt voneinander abhängig, doch wohl mit einer gemeinschaftlichen Ursache“. Und ich fügte in meiner ersten Arbeit hinzu, daß diese gemeinschaftliche Ursache schließlich keine andere sein könnte als die Bindung von Antigen und Antikörper. Hieraus geht also ganz deutlich hervor, daß ich in meiner jüngsten Veröffentlichung **nichts** anerkannt habe, was ich früher geleugnet haben soll.

Daß dem anaphylaktischen Komplementschwund in vivo eine spezifische Bedeutung zukommt, daran habe ich nie gezweifelt. Der Unterschied in der Auffassung von Friedberger und von mir liegt aber nicht hier. Wo er liegt, möchte ich kurz und mit einem einfachen Schema angeben:



Da nun eine konzentrierte Kochsalzlösung, dem präparierten Tier vor der Reinjektion intravenös eingespritzt, den Ausbruch der Symptome verhütet, und mit Rücksicht auf die Tatsache, daß in vitro schon wenig hypertonische Lösungen jede Komplementbindung verhindern, so folgerte Friedberger, „daß auch im Organismus die künstliche, für kurze Zeit erzielte Hypertonie die Komplementverankerung für einige Zeit und damit die Anaphylaxie hintanhalt“. Wenn also die Hypertonie des Mediums bei a eingreift (s. Figur), dann kann auch die Wirkung b nicht zustande kommen, während — nach meinem Schema — wenn c ausbleibt, die Wirkung d gar nicht beeinflußt zu werden braucht. Da aber im hypertonen Tier zugleich mit dem Ausbleiben des Komplementschwunds auch die anaphylaktischen Krankheitserscheinungen sich nicht zeigen, so meint Friedberger, daß meine Auffassung damit verurteilt sei.

Doerr und Russ haben nun aber die mir sehr sympathische Hypothese geäußert, daß die Hypertonie des Mediums schon bei der Eiweiß-Antieiweißverbindung eingreifen könne, und daß damit sowohl Komplementschwund wie Krankheits-symptome verhindert werden sollten. Wäre dies richtig, so wäre natürlich meine Auffassung mindestens noch ebenso berechtigt wie diejenige von Friedberger. Nun meinen aber Friedberger und Goldschmid die Hypothese von Doerr und Russ zurückgewiesen zu haben, indem sie zeigten, daß in hypertonen Salzlösungen die Eiweiß-Antieiweißverbindung **in vitro** nicht verringert oder verzögert ist. (Nur das sichtbare Präzipitationsphänomen sei bedeutend verlangsamt.) Und daraus schließen sie dann l. c., „daß die anaphylaxiehemmende Wirkung konzentrierter Salzlösungen (ich füge hinzu: **in vivo**) nicht auf der Verhinderung der Antigen-Antikörperbindung beruhen kann“.

Nun möchte ich aber nachdrücklichst betonen, daß damit diese Frage noch gar nicht im Sinne Friedbergers entschieden ist. Bei der Anaphylaxie soll man sich mehr wie je hüten, aus Versuchsergebnissen *in vitro* mit stark präzipitierenden Seris ohne weiteres auf das Geschehen *in vivo* bei der einfachen Anaphylaxie zu schließen. Ich habe ein gewisses Recht, davor zu warnen, weil ich ja zuerst auf die Inkongruenz in der Komplementbindung *in vivo* und *in vitro* bei der reinen aktiven Anaphylaxie hingewiesen habe.

Ich habe daher die feste Ueberzeugung, daß — mit Rücksicht auf den nicht notwendigen Parallelismus zwischen Schwere der anaphylaktischen Vergiftungserscheinungen und Intensität des Komplementschwunds — die in meinem Schema gegebene Vorstellung noch immer den Vorzug verdient. Man wird es verstehen, daß die jüngst von Friedberger für seine Auffassung angeführten Gründe für mich nicht beweisend sein können, und man wird mindestens zugeben müssen, daß „*ad hoc sub judice lis est*“.

Es geht aus den neueren Arbeiten (Doerr und Russ, Friedberger, H. Pfeiffer u. a.) immer deutlicher hervor,

daß der anaphylaktische Reaktionsprozeß ein humoraler Vorgang ist, und daß Friedberger recht hatte, indem er jüngst seine „sessilen Rezeptoren“ in den Ruhestand versetzte. Die Abderhaldensche Schule ist denn auch wohl richtig in ihrer Annahme, daß der anaphylaktische Shock einen Prozeß fermentativer Natur darstellt, wobei aus dem abgebauten Eiweiß giftige Spaltungsprodukte entstehen¹⁾. Daß dabei — wie ich u. a. zeigten — Komplement gebunden, d. h. verbraucht wird, ist eine ganz natürliche Sache: das Komplement ist ja der biologische Indikator par excellence für allerlei fermentartige serologische Reaktionen. Aber wenn dem so ist, dann geht daraus zu gleicher Zeit wiederum hervor, daß die anaphylaktischen Krankheitssymptome — d. h. die Intoxikation mit den giftigen Abbauprodukten des heterologen Eiweißes — nicht die Folge des Komplementschwunds, sondern nur des ursprünglichen fermentativen Prozesses (die Reaktion zwischen Antigen und Antikörper) sein kann. Diese ist die gemeinschaftliche Ursache, wovon Komplementschwund und Intoxikation die Folgeerscheinungen sind; die beiden letzteren stehen aber nur als Begleiterscheinungen zueinander. Die Zukunft wird lehren, ob ich mit meiner Auffassung recht habe.

1) Hierauf hat übrigens Weichardt schon längst hingewiesen.

Nachdruck verboten.

„Die Rolle des Komplementes bei der Anaphylaxie.“

(Kritik der „Richtigstellung“ des Herrn Sleeswijk.)

Von **E. Friedberger.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. September 1910.)

Sleeswijk behauptet in der vorstehenden Notiz, daß ich seinen Standpunkt nicht richtig wiedergegeben habe.

Es genügt wohl, wenn ich zur Begründung meiner Auffassung noch einmal den Passus aus der ersten Arbeit von Sleeswijk ausführlich zitiere, aus dem meiner Meinung nach unzweideutig hervorgeht, daß S. ursprünglich einen direkten Zusammenhang zwischen Anaphylaxie und Komplementschwund nicht angenommen hat.

Sleeswijk schreibt in dieser Zeitschrift, Bd. 2, p. 151:

„Es ist eine bekannte Tatsache, daß, wenn man bei einem sensiblen Meerschweinchen die zweite Seruminjektion nicht in die Bauchhöhle oder unter die Haut, sondern direkt in das Blutgefäßsystem macht¹⁾, die Vergiftungserscheinungen sehr bald auftreten und äußerst schnell verlaufen. Wenn man nun gleich nach der Seruminjektion in die Blutbahn und während die Intoxikation schon manifest ist¹⁾, das Tier entblutet, so kann man konstatieren, daß das sofort von den Blutkörperchen getrennte Serum noch seinen normalen Alexingehalt aufweist. Die Alexinfixation im Organismus braucht also eine gewisse Zeit. Aber diese Tatsache beweist zu gleicher Zeit, daß die Vergiftungserscheinungen nicht die Folge des Alexinverlustes sind¹⁾, sondern daß es zwei Prozesse sind, nicht direkt voneinander abhängig, doch wahrscheinlich wohl mit einer gemeinschaftlichen Ursache.“

Auf dem Internationalen medizinischen Kongreß in Budapest (Compt. Rend., T. 2) sagt er:

„Im anaphylaktischen Shock verschwindet Komplement. Man kann aber zeigen, daß der Komplementschwund als solcher nicht als Ursache der anaphylaktischen Reaktion betrachtet werden darf.“

1) Die gesperrten Stellen sind im Original nicht gesperrt.

Das ist wohl „für jeden, der lesen kann und will“, deutlich genug. S. hat eben bei intravenöser Injektion vor dem Tod keinen Komplementschwund beobachtet, und auf Grund dieser allerdings, mangels einer exakten Technik, unrichtigen Tatsache von seinem Standpunkt aus mit Recht gefolgert, „daß die Vergiftungserscheinungen nicht die Folge des Alexinverlustes sind“. Ich konnte mit Hartoch den Komplementschwund bei der intravenösen Reinjektion regelmäßig beobachten. Allerdings haben wir uns nicht mit qualitativer Methode begnügt, sondern wir sind streng quantitativ vorgegangen.

In seiner zweiten Arbeit wendet sich Sleeswijk gegen Friedberger und Hartoch, und führt die Differenzen angeblich darauf zurück, daß wir intravenös injiziert haben.

Er schreibt: „Beim Durchlesen der Arbeit von Friedberger und Hartoch war es mir schon aufgefallen, daß sie bei ihren Versuchstieren die Reinjektion stets intravenös¹⁾ vorgenommen haben, während meine Angaben sich auf intraperitoneale¹⁾ Prüfung der sensibilisierten Meer-schweinchen stützten.“

Da scheint der Autor allerdings ganz vergessen zu haben, daß er seine Folgerungen gerade auf Grund der eigenen Resultate bei intravenösen Einspritzungen gemacht hat.

In dieser Arbeit findet er nun auch, mit unserer quantitativen Methode operierend, den Komplementschwund schon 3—4 Minuten nach der intravenösen Injektion. Es ist also nicht richtig, daß der Autor „nichts anerkannt habe, was er früher geleugnet haben soll“.

Also das irrtümlich konstatierte Fehlen des Komplementschwundes hat Sleeswijk zu seiner Folgerung veranlaßt, nicht ein einfacher Mangel des Parallelismus mit den Symptomen. Der würde zudem gar nichts beweisen; er findet eine einfachere Erklärung in den quantitativen Verhältnissen bei der Anaphylatoxinbildung, wie sie von Friedberger und Vallardi aufgedeckt sind.

Nun war aber immer noch selbst das konstante Auftreten der Komplementverarmung auch bei der intravenösen Injektion,

1) Im Original nicht gesperrt.

wie ich (es im Gegensatz zu S. zuerst mit Hartoch konstatiert habe, kein Beweis dafür, daß das Phänomen mit der Anaphylaxie ursächlich in Zusammenhang steht. Es konnte sich ebenso gut um ein ganz sekundäres Begleitmoment handeln. Also im Sinne von Sleeswijk „um zwei Prozesse nicht direkt voneinander abhängig, doch wohl mit einer gemeinschaftlichen Ursache“. Der kausale Zusammenhang wurde erst erschlossen durch die Salzversuche von Friedberger und Hartoch. Trotz der eindeutigen Resultate dieser Versuche und der weiteren von Friedberger und Goldschmid will aber Sleeswijk unsere Beweisgründe nicht anerkennen. Er beruft sich auf Doerr und Russ. Es scheint ihm aber auch wieder entgangen zu sein, daß Doerr selbst ja schon sogar vor Veröffentlichung der neuen Argumente durch Friedberger und Goldschmid (in seinem Sammelreferat, diese Zeitschrift, II. Teil, April 1910) seine ursprüngliche Erklärung aufgegeben hat.

S. wendet sich gegen die Uebertragung der Reagenzglasversuche auf die Verhältnisse in vivo und glaubt „dazu ein gewisses Recht zu haben“, weil er ja zuerst auf die Inkongruenz in der Komplementverbindung in vivo und in vitro bei der aktiven Anaphylaxie hingewiesen habe.

S. hat auch hier übersehen, daß inzwischen längst Anti-eiweißkörper im Serum präparierter Meerschweinchen nachgewiesen worden sind.

Ganz abgesehen davon aber muß man doch im Tierkörper und Reagenzglas die gleichen Verhältnisse annehmen, wenn man bedenkt, daß in vitro eine 16-proz. Kochsalzlösung die Antigen-Antikörperverbindung nicht nachweislich stört, eine 2-proz. Lösung aber schon die Komplementverarmung gänzlich verhütet.

Glaubt Sleeswijk wirklich, daß bei so extremen Bedingungen und eindeutigen Befunden im Tierkörper mit einem Male die Verhältnisse umgekehrt liegen? Dann sollte man überhaupt keine biologischen Reagenzglasversuche mehr anstellen.

Wenn S. von der Zukunft die Bestätigung seiner Auffassung erhofft, wonach also der Komplementschwund nur

eine Folgeerscheinung der Vergiftung ist, so wird das den literaturkundigen Leser immerhin wundern. Sollten dem Autor wiederum alle die Arbeiten über das Anaphylatoxin entgangen sein?

Ich verweise ihn auf die Versuche über die Darstellung des Anaphylaxiegiftes in vitro. Hier wird bekanntlich nur dann Gift abgespaltet, wenn Komplement auf das Präzipitat einwirkt, während inaktiviertes Serum ohne Einfluß ist.

Daraus ergibt sich aber unzweideutig die ausschlaggebende Rolle des Komplements bei der Anaphylatoxinbildung.

Damit ist also die Entscheidung, die S. von der Zukunft erwartet, längst gefällt und es ist tatsächlich bewiesen, daß die Auffassung von Sleswijk jeder Grundlage entbehrt.

Nachdruck verboten.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin. Leiter: Priv.-Doz. H. Liefmann.]

Die Wirkung des Komplementes auf die ambozeptor-beladenen Blutkörperchen.

(Das Verhalten des Mittelstückes des Komplementes.)

Von Priv.-Doz. Dr. H. Liefmann und M. Cohn.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Juli 1910.)

Ferratas¹⁾ Entdeckung der Spaltbarkeit des hämolytischen Komplementes muß vom experimentellen Standpunkt deswegen für besonders wichtig erachtet werden, weil sie die Möglichkeit gibt, den ersten Akt der Komplementwirkung vor begonnener Blutauflösung zu studieren. Ist einmal die Hämolysen beendet, so können ja die veränderten und freigewordenen Bestandteile der Blutkörperchen ihrerseits auf das Komplement in irgendeiner Weise einwirken. Aus den Verhältnissen, wie sie sich nach der durch das Komplement vollzogenen Zerstörung der Erythrocyten dem Beobachter darbieten, einen Schluß auf die Vorgänge zu ziehen, die erst die Hämolysen herbeiführen, ist daher vielleicht nicht zulässig.

Brand²⁾ und Hecker³⁾ haben nun das Verdienst, in ihren unter Leitung von Hans Sachs angestellten Untersuchungen zum ersten Male die Nutzanwendung aus der Ferrataschen Entdeckung gezogen und unsere Kenntnisse über den Mechanismus der Komplementhämolysen erweitert zu haben. Ihre Resultate sind in der Folge von anderen Autoren bestätigt und erweitert worden.

Ferrata hat gesehen, daß bei der Dialyse das hämolytische Komplement in zwei Teile zerfällt, von denen der

1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 34.

3) Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther., Frankfurt, 1909, Heft 3.

eine mit der Albuminfraktion in Lösung bleibt, der andere sich mit dem Globulin (Euglobulin) ausscheidet. Um die ambozeptorbeladenen Blutkörperchen aufzulösen, müssen sich beide Teile ergänzen. Allerdings gelingt die Spaltung nicht immer vollständig.

Weiterhin sind noch andere Methoden zur Zerlegung des Komplementes angegeben worden; sie beruhen auf Verdünnung des Serums mit destilliertem Wasser und Zufügung von Salzsäure [H. Sachs und Altmann¹⁾] oder Einleitung von Kohlensäure. Wir haben uns meistens der Angaben von H. Sachs und Altmann bedient.

In den Arbeiten von Brand und Hecker begegnet man einer Figur, die als die Weiterentwicklung des von Ehrlich entworfenen Schemas des hämolytischen Vorganges anzusehen ist. Wie nach Ehrlichs Hypothese der Ambozeptor mit der einen Gruppe sich an dem Rezeptor der Blutkörperchen verankert, mittels der andern sich mit dem Komplement verbindet, so soll der Globulinteil des Komplementes eine dem Ambozeptor ähnliche Struktur und Funktion besitzen. Der Globulinbestandteil bindet sich einerseits an die sensibilisierten Blutkörperchen, andererseits vermittelt er die Wirkung des zweiten Komplementbestandteils. Diesen letzteren nennen sie deshalb „Endstück“, den ersten „Mittelstück“. Diese Anschauung haben die genannten Autoren aus den Ergebnissen ihrer Bindungsversuche konstruiert. Sie versahen Rinderblutkörperchen mit etwa 10 Ambozeptoreinheiten (0,015 Kaninchen-serum), dann mit dem „Mittelstück“. Nach einiger Zeit zentrifugierten sie ab und sahen, fügten sie „Endstück“ hinzu, Hämolyse der vorbehandelten Blutzellen eintreten.

Wir haben diese Versuche wiederholt, aber nur anfangs das gleiche Resultat erhalten.

I. Das Bindungsverhältnis des „Mittelstückes“ an stark sensibilisierte Blutkörperchen.

Die Verhältnisse bei der Bindung des Mittelstücks sind nicht so einfach, wie es nach den bisherigen Darstellungen scheinen könnte. Aus diesem Grunde haben wir den Gegen-

1) Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsf., Bd. 2, p. 969.

stand einem genaueren Studium unterzogen. Drei Punkte sollen an erster Stelle besprochen werden: 1) in welcher Zeit das Mittelstück gebunden wird, 2) wieviel von ihm freibleibt, 3) wieviel tatsächlich gebunden wird. Hierbei werden wir vorerst nur stark sensibilisierte Blutkörperchen ins Auge fassen.

1. Die Geschwindigkeit der Bindung.

Ist wirklich die Bindung des Mittelstücks an die sensibilisierten Blutkörperchen der erste Akt des hämolytischen Vorganges, so sollte es nicht erforderlich sein, zum Zwecke der Bindung Mittelstück, Blutkörperchen und Ambozeptor längere Zeit zu digerieren; kommt beispielsweise die Blutauflösung in 3 oder 5 Minuten zustande, so sollte diese Zeit auch für die Bindung des isolierten Mittelstücks genügen. Daß dem nicht so ist, zeigt folgender Versuch.

Das Serum eines Kaninchens, das mit Hammelserum gespritzt war, enthielt auch einen hämolytischen Immunkörper; wir nennen ihn „Kan.“ und wenden ihn in der Konzentration von 1:40 an, das sind ungefähr 12 Ambozeptoreinheiten (0,5 Ambozeptor 1:40 auf 0,5 Blutkörperchen und 0,05 Komplement in 4 ccm Flüssigkeit).

NaCl	Blk.	$\frac{1}{40}$ Kan.	Mittst.	Endst.	
2,5	0,5	0,5	0,5	0,5	nach 4' total gelöst

NaCl = 0,85-proz. Kochsalzlösung, Blk. = dreimal gewaschene Hammelblutkörperchen (5 Proz.), Mittst. = Mittelstück, Endst. = Endstück. Da Mittelstück und Endstück, auf das Serum bezogen, 10-fach verdünnt sind, so bedeutet 0,5 in Wirklichkeit immer 0,05, 1,0 = 0,1 usw. Wo es heißt: 0,5 Mittelstück $\frac{1}{10}$, da ist also tatsächlich 0,005 gemeint.

Die Röhrchen werden zur Beobachtung der Hämolyse stets im Wasserbad von 37° gehalten.

Jeder Komplementbestandteil für sich löste die sensibilisierten Blutkörperchen nicht oder nur spurenweise auf.

4 Minuten reichten also zur Hämolyse aus. Demnach mußten eigentlich 4 Minuten auch für die Bindung des Mittelstücks genug sein. Wir versuchten es nun sogar mit 15 Minuten.

No.	NaCl	Blk.	$\frac{1}{40}$ Kan.	Mittst.
I	1,0	0,5	0,5	0,5
II	1,0	0,5	0,5	0,5

Beides verblieb 15 Min. bei 37°, darauf wurde abzentrifugiert. Sediment I wuschen wir noch einmal mit 5-proz. NaCl, Sediment II wurde nicht gewaschen.

NaCl	Sedim.	Endst.		nach 2 ^h ungelöst	nach 24 ^h
3,5	I	0,5			Spur
3,5	II	0,5		„ 2 ^h stark gelöst	stark gelöst

Selbst das ungewaschene Sediment wurde somit erst im Laufe von 2 Stunden stark gelöst, und es ist nicht einmal sicher, ob nicht auch dieser Grad der Lösung der unvollkommenen Scheidung von Bodensatz und überstehender Flüssigkeit zuzuschreiben ist. Es folgt daraus: obwohl die Hämolyse im Vorversuch nach 4 Minuten komplett war, hat sich doch nach 15 Minuten das isolierte Mittelstück nur in unmerklichem Grade, vielleicht gar nicht gebunden. Erst nach längerer Zeit kommt es zur Verankerung.

2. Die Menge des ungebundenen Mittelstücks.

In den Arbeiten von Brand und Hecker wird gesagt, das Mittelstück werde von den ambozeptorbeladenen Blutkörperchen gebunden. Das könnte den Eindruck erwecken, als ob es ganz aus der Suspensionsflüssigkeit verschwinde und sich so verhielte, wie wir es beim Ambozeptor zu sehen gewohnt sind. Die Prüfung des Abgusses, deren die Autoren nicht erwähnen, belehrt uns eines anderen. Und da zu den gewöhnlichen hämolytischen Versuchen mehr Komplement benutzt wird, als zur Hämolyse notwendig ist, so steht zu erwarten, daß nicht die Gesamtmenge des Mittelstücks der Bindung anheimfällt. Dem entspricht der Ausfall des folgenden Versuches.

Der Ambozeptor („Amb.“) war einer mit Hammelblut behandelten Ziege entnommen; davon entspricht 1:90 etwa 22 Einheiten, 1:500 etwa 4 Einheiten. — Blutkörperchen wurden mit 22 Ambozeptoreinheiten beladen und nach 1-stündigem Verweilen bei 37° mit NaCl gewaschen. Zu dieser Zeit war die gesamte Ambozeptormenge gebunden. Der Bodensatz von 1,0 so vorbehandelter Blutzellen wurde mit 3,0 NaCl + 1,0 Mittst. 1 Stunde bei 37° gehalten, hernach abzentrifugiert. Den Abguß („Abg.“) prüften wir der Genauigkeit wegen mit nur schwach sensibilisierten Erythrocyten. Folgendes sind die Kontrollen.

No.	NaCl	Blk.	1/500 Amb.	Mittst.	Endst.	
1)	2,0	0,5	0,5	1,0	—	nach 2 ^h ungelöst
2)	2,0	0,5	0,5	—	1,0	„ 2 ^h „
3)	2,0	0,5	0,5	0,5	0,5	„ 12' total gel.

Die Prüfung des Abgusses fiel in dieser Weise aus:

NaCl	Blk.	1/500 Amb.	Abg.	5' 37°	Endst.	
0,5	0,5	0,5	2,5	—	—	nach 1 1/4 ^h ungelöst
—	0,5	0,5	2,5	+	0,5	„ 5' total gel.

2,5 Abguß entspricht 0,5 Mittelstück. — Es wird auffallen, daß das Endstück mit dem Abguß sogar schneller löste als mit dem Mittelstück der Kontrolle. Wir konnten diesen Vorgang, gewissermaßen eine Anreicherung, des öfteren beobachten, ohne in der Lage zu sein, ihn zu erklären. Freier Ambozeptor im Abguß kommt jedenfalls für die Beschleunigung nicht in Betracht.

Noch ein Beispiel sei genannt, indem 0,5 Mittelstück nicht mit 0,5 ccm, sondern mit 2,0 ccm Blutkörperchen digeriert wurde. Hier wählten wir außerdem zur Sensibilisierung fast 70 Ambozeptoreinheiten (von derselben Ziege zur selben Zeit wie oben entnommen). Die Sensibilisierung, bei welcher die gesamte Ambozeptormenge fixiert wurde, geschah wie oben.

2,0 ccm derartig stark mit Ambozeptor beladener (dann nochmals gewaschener) Blutkörperchen wurden 1 Stunde bei 37° mit 0,5 Mittelstück in 3,5 Volumen digeriert. Nach dieser Zeit zentrifugierten wir und untersuchten den Abguß („Abg.“). Die Kontrollen zeigen, daß wir hier eine ausnehmend vollkommen gelungene Spaltung vor uns haben:

No.	NaCl	Blk. + Amb. $\frac{1}{30}$	Blk. + Amb. $\frac{1}{300}$	Mittst.	Endst.	
1)	2,0	1,0	—	1,0	—	} nach 24 ^h ungel.
2)	2,0	1,0	—	—	1,0	
3)	2,0	1,0	—	0,5	0,5	} nach 2' total gel.
4)	2,0	—	1,0	1,0	—	
5)	2,0	—	1,0	—	1,0	} nach 24 ^h ungel.
6)	2,0	—	1,0	0,5	0,5	

1,0 Blk. + Amb. 1:30 = 0,5 Blk. mit 70-fachem Ambozeptor = Ueberschuß
 1,0 „ + „ 1:300 = 0,5 „ „ 7 „ „ = „

Nun fügten wir zu dem Bodensatz von 0,5 ccm 7-fach sensibilisierter Blutkörperchen den Abguß und 0,5 Endstück, im ganzen 4,0 Volumen.

Resultat: Nach 5 Minuten totale Lösung. Selbst 280 Ambozeptoreinheiten, d. h. etwa 0,067 ccm Serum, auf 2,0 ccm Blutkörperchen verteilt, vermochten also nicht den im Globulinniederschlag befindlichen Teil von 0,05 Komplement deutlich zu schwächen. Und doch war ein Teil gebunden, wie gezeigt werden wird. Auch diese Tatsache läßt sich nicht leicht mit der Anschauung, von der wir ausgegangen sind, in Uebereinstimmung bringen.

3. Die Menge des gebundenen Mittelstücks.

Findet man im Abguß ambozeptorbeladener, mit Mittelstück versetzter Blutkörperchen den Globulinteil des Komplements so ungeschwächt wieder, wie wir es gesehen, so muß man sich die Frage vorlegen, ob überhaupt etwas und wie viel zur Bindung gelangt.

Wir kehren zu dem letztangeführten Beispiel zurück. Wir haben dort nur den Abguß geprüft. Wenden wir uns jetzt dem Sediment zu! Dieses wird in 3,5 NaCl aufgeschwemmt und 0,5 Endstück zugesetzt: nach 12 Minuten totale Lösung. Wieviel ist gebunden?

Hier muß auf 3 Momente hingewiesen werden. a) Häufiges Zentrifugieren schädigt die Widerstandskraft gerade sehr stark sensibilisierter Blutkörperchen nicht unerheblich. b) Die Trennung von Bodensatz und Flüssigkeit gelingt oft nicht einwandfrei, und bei einem so enormen Ambozeptorüberschuß kann schon eine sehr geringe Quantität im Sediment verbliebenen Mittelstücks einen bedeutenden Ausschlag geben. c) Es ist ein Irrtum, von der Lösungszeit auf die Menge des gebundenen Mittelstückes zu schließen, wenn die Zeit der Digerierung mit diesem in den Versuchen eine verschiedene gewesen ist.

Wir werden später zeigen, daß die Lösungszeit von 12 Minuten in unserem Falle einer viel längeren Zeit bei gleichzeitigem Zusatz der Substanzen (etwa 45 Minuten und mehr) entsprechen kann.

Vernachlässigen wir jedoch fürs erste diese 3 Fehlerquellen und stellen fest, daß in unserem Versuch auf 0,5 Ambozeptorvorbehandelter Blutkörperchen 0,125 Mittelstück kommt. Damit vergleichen wir einen Kontrollversuch.

NaCl	Blk. + Amb.	$\frac{1}{80}$	Mittst.	5 Min.	37°	Endst.	
2,4	1,0		0,1	+		0,5	nach 2' total gel.

In Anbetracht des großen Ambozeptorüberschusses bedeutet die Lösungszeit von 12 Minuten des vorbehandelten Sedimentes eine beträchtliche Verzögerung. — Aus alledem folgt, daß weit weniger Mittelstück gebunden wird als der Geschwindigkeit entspricht, mit der die

Hämolyse durch die ursprünglich zugesetzte Menge Mittelstück erfolgt.

Dagegen steht zweifellos fest, daß überhaupt vom Globulinteil des Komplementes etwas an die stark sensibilisierten Blutkörperchen gebunden ist. Denn eine Auflösung des wie oben erhaltenen Bodensatzes mittels Endstück erreichten wir auch bei Anwendung eines nicht so erheblichen (aber immer 12 Einheiten übersteigenden) Ambozeptorüberschusses; selbst durch Waschen war der gebundene Bruchteil des Mittelstücks nicht wieder zu entfernen.

Es sei hinzugefügt, daß wir auch 0,5 Blk. + 0,5 Amb. 1:30 (= 70 Ambozeptoreinheiten; nach der Sensibilisierung nicht gewaschen) mit 0,05 intakten Komplementes bei 3—5° digeriert haben — mit demselben Resultat: die Blutkörperchen, schienen eine Spur des Globulinteils gebunden zu haben, denn sie lösten sich nach Zusatz von Endstück auf, wie dies von Sachs und Bolkowska¹⁾ schon gezeigt worden ist. Die Prüfung des Abgusses zeigte das Komplement in kaum geschwächter Wirksamkeit.

In den Versuchen mit den von uns angewandten Substanzen bringt die übermäßige Sensibilisierung mannigfache Schwankungen mit sich. Zuweilen löst sich das Sediment nicht auf, zuweilen ist der Abguß unwirksam geworden; hier und da ist das Mittelstück weder im Bodensatz noch im Abguß wiederzufinden. Zur Erklärung muß berücksichtigt werden, daß das Komplement des Meerschweinchenserums nicht von konstanter Stabilität ist und das Verweilen bei 37° eine Stunde lang sich in unangenehmer Weise bemerkbar machen kann. Ferner enthält unser Ziegenimmunserum ein Antikomplement; wir haben den Eindruck, daß dies in beträchtlicher Menge an den Blutkörperchen haften bleiben²⁾ und trotz Waschens der Erythrocyten eingreifen kann. Da wir gefunden haben, daß dieses Antikomplement in der Kälte nicht wirkt, so dürfte es sich empfehlen, wenigstens zu Kontrollzwecken mitunter bei niedriger Temperatur zu operieren.

1) Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 2, p. 967.

2) Siehe auch Noguchi, Journal of exper. Med., Vol. 8, 1906, No. 6.

Außerdem dürfen wir nicht vergessen, daß, wie üblich, unser Immunserum mit Karbol versetzt ist. Infolgedessen ist es getrübt und das Eiweiß in einen Zustand übergegangen, in dem es leicht sedimentiert.

II. Das Verhältnis des Mittelstücks zu schwach sensibilisierten Blutkörperchen.

Die Untersuchungsergebnisse bezüglich der Bindungsgeschwindigkeit, der Menge des gebundenen und nicht gebundenen Mittelstücks sind demnach der Annahme nicht sonderlich günstig, nach welcher der erste Akt der Komplementwirkung in der Verankerung des Globulinteils zu erblicken sei. Die ganze Frage erhält aber eine neue Beleuchtung sobald wir analoge Versuche anstellen, jedoch mit schwach sensibilisierten Blutkörperchen. Darunter verstehen wir Erythrocyten, die mit 3 bis 6 oder 7 Ambozeptoreinheiten versehen sind und die unter Anwendung der üblichen Komplementdosis sich immer noch sehr schnell — in 6—20 Minuten — auflösen. Hier haben wir nur zwei Punkte zu erörtern: 1) wieviel Mittelstück von den ambozeptorvorbehandelten Blutzellen aufgenommen wird, 2) wieviel frei bleibt.

1. Die Menge des gebundenen Mittelstücks.

Wir beschreiben einen Versuch in extenso. Zur Sensibilisierung diente ein Immunkörper von einem Kaninchen in der Konzentration von 1:400 („Kan.“) und von einer Ziege, in der Konzentration von 1:1500 („Ziege“); beide stellten ungefähr 3 Einheiten dar.

No.	NaCl	Blk.	Kan.	Ziege	Mittst.	Endst.
a)	2,5	0,5	0,5	—	0,5	— nach 2 $\frac{1}{2}$ h sehr schwach gel.
b)	2,5	0,5	0,5	—	—	0,5 dgl.
c)	2,0	0,5	0,5	—	0,5	0,5 nach 14' total gel.
d)	2,5	0,5	—	0,5	0,5	— nach 2 $\frac{1}{2}$ h sehr schwach gel.
e)	2,5	0,5	—	0,5	—	0,5 dgl.
f)	2,0	0,5	—	0,5	0,5	0,5 nach 19' total gel.

Den Bindungsversuch haben wir folgendermaßen angesetzt.

No.	NaCl	Blk.	Kan.	Ziege	Mittst.	1 $\frac{1}{2}$ 37° zentrif., abgegossen, Sedim. nicht gewaschen
I.	1,0	0,5	0,5	—	0,5	dgl.
II.	1,0	0,5	0,5	—	0,5	dgl., Sed. gewaschen mit 5,0 NaCl
III.	1,0	0,5	—	0,5	0,5	dgl., Sed. nicht gewaschen
IV.	1,0	0,5	—	0,5	0,5	dgl., Sed. gewaschen mit 5,0 NaCl

Die Abgüsse waren etwas gelblich, daher die Sedimente etwas blaß.

Prüfung der Sedimente:

NaCl	Sedim.	Endst.	
3,5	I	0,5	nach 24 ^b sehr schwach gel.
3,5	II	0,5	" " " " "
3,5	III	0,5	" " Spur gel. " "
3,5	IV	0,5	" " sehr schwach gel.

Selbst die ungewaschenen Sedimente lösten sich also nach Zusatz von Endstück nicht auf. **Es hat demnach überhaupt keine Bindung des Mittelstücks stattgefunden.** Gleichwohl war die Versuchsanordnung insofern für eine Bindung günstig, als wir das Volumen der Gesamtflüssigkeit auf 2,5 ccm im Gegensatz zu den 4,0 ccm des Vorversuchs herabgesetzt haben; denn je geringer das Volumen, um so intensiver die Hämolyse, wie Kiss dargelegt hat und wie wir noch weiterhin sehen werden.

Auch wenn die Hämolyse der Kontrolle schon in 6 Minuten beendet war, so wurde doch in den Versuchen jede deutliche Bindung des Globulinteils an die Blutkörperchen vermißt, mochten wir auch statt 0,5 Mittelstück auf 0,5 Blutkörperchen sogar 1,0 anwenden. Zu den gleichen Resultaten sind wir gelangt, ob wir nun die Spaltung des Komplements mittels Dialyse oder Salzsäure oder Kohlensäure vorgenommen, ob wir frisch hergestelltes oder einige Tage in Kochsalzlösung gelagertes Mittelstück erprobt haben. Wir haben diese Versuche ungemein oft wiederholt, stets mit dem gleichen Resultat.

2. Die Menge des ungebundenen Mittelstücks.

Nach einem derartigen Ausfall der Versuche ist es nicht verwunderlich, daß die unverminderte Quantität des Mittelstücks frei und wirksam in der Abgußflüssigkeit nachgewiesen werden konnte. Dementsprechend löste der Abguß des letzten Versuchs neue Blutkörperchen mit wenig Ambozeptor und voller Dosis Endstück sogar schneller als die Kontrolle. In Uebereinstimmung damit ist es nicht gelungen, den Globulinteil durch Bindungsversuche zu erschöpfen. Statt vieler Beispiele mag das bezeichnendste zitiert werden.

20,0 Blk. (5-proz.) werden mit dem Immunserum der Ziege in der Weise versetzt, daß auf 0,5 Blk. 0,5 Amb. $\frac{1}{800}$ entfällt (6—7 Einheiten). Nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank werden die Blutkörperchen

abzentrifugiert und mit 10,0 ccm NaCl gewaschen. Zum Bodensatz werden 3,0 NaCl + 0,5 Mittst. zugefügt. Das Ganze bleibt 1 Std. bei 37°. Darauf wird wieder abzentrifugiert und abgegossen. Weil jedoch die Blutkörperchen nur schwach agglutiniert waren, so mißglückte das restfreie Abgießen der Flüssigkeit, und mehr als 0,5 ccm (über $\frac{1}{7}$) entging der Prüfung.

Trotzdem löste dieser gekürzte Abguß das Sediment von 0,5 ebenso schwach sensibilisierter Blutkörperchen mit 0,5 Endstück (in 4,0 ccm Volumen) in 7 Minuten total. Die Kontrolle war in 6 Minuten gelöst, die übrigen Kontrollen fehlerfrei. Hier kam also tatsächlich auf 1,0 Blk. 0,0025 Mittelstück, und doch war davon der größte Teil erhalten.

Wir haben diesen Versuch auch mit 100 ccm präparierten Blutes (5 Ambozeptoreinheiten) wiederholt und wiederum das gleiche Resultat gesehen.

Endlich haben wir noch den grobmechanischen Eingriff des Zentrifugierens ausgeschaltet.

Blk.	Amb. $\frac{1}{1000}$	15 Min. 37°	NaCl	Mittst.
0,5	0,5	+	2,0	0,5

Das Gemisch blieb 30 Min. bei 37°, dann ca. 1 Stunde bei Zimmertemperatur (26°), bis zum folgenden Tage im Eisschrank. Am nächsten Morgen hatten sich die Blutkörperchen zu Boden gesenkt, die überstehende Flüssigkeit war gelblich. Es gelang hiervon nur 3,0 ccm abzupipettieren.

Trotzdem löste sich das etwas blasse Sediment nach Zusatz von 0,5 Endstück und Auffüllung mit NaCl auf 4,0 ccm in $1\frac{3}{4}$ Stunde nicht auf.

Die abpipettierte Flüssigkeit, die — wie gesagt — nicht die Gesamtmenge des verwendeten Mittelstücks enthielt, wurde mit dem Bodensatz von 0,5 in gleicher Weise sensibilisierter Blutkörperchen $\frac{1}{10}$ Std. bei 37° digeriert; auf Zusatz von 0,5 Endstück (Volumen 4,0 ccm) trat die Hämolyse in 10 Min. ein, doppelt so schnell wie die Kontrolle des vorhergehenden Tages. Globulinteil und Albuminteil für sich lösten nicht. Auch die möglichst weitgehende Ausschaltung der umgebenden Flüssigkeit bewirkte keine Bindung des Mittelstücks. Wir gingen in der Weise vor, daß wir 1,0 Mittelstück ($\frac{1}{10}$) mit 0,5 sensibilisierten Blutkörperchen bei Gegenwart von sehr wenig Kochsalzlösung 1 Stunde digerierten. Aber auch bei dieser starken Konzentration wurde kein Mittelstück gebunden. Denn Zusatz von Endstück zum Sediment ergab — ebenfalls ohne jede weitere Zufügung von Flüssigkeit — keine Hämolyse.

III. Vergleich zwischen dem Bindungsverhältnis des Mittelstücks zu stark und schwach sensibilisierter Blutkörperchen.

Daß die Hämolyse ambozeptorvorbehandelter Blutzellen durch das gespaltene Komplement mit einer „Bindung“ des Mittelstücks einsetze, diese Anschauung ist angesichts unserer Feststellungen nicht aufrecht zu erhalten. Wir müssen uns nun darüber klar zu werden suchen, was die geringfügige Verankerung des Globulinteils bei Gegenwart eines Ambozeptorüberschusses zu besagen hat. Vieles spricht dafür, daß diese Bindung nicht zur eigentlich hämolytischen Funktion des Ambozeptors gehört. Sonst müßte eine geringere Ambozeptormenge — die ja gleichfalls zu schneller Blutauflösung führt — das Mittelstück ebenso zur Bindung veranlassen. Das ist aber auch nicht im geringsten der Fall. Daraus folgt, daß die Fixierung des Globulinteils als ein Prozeß *sui generis* neben der Hämolyse einherläuft. Und doch handelt es sich offenbar um die Bindung des Mittelstücks an einen Antigen-Antikörperkomplex. Immunkörper, die im Verein mit ihrem Antigen Komplement fixieren, bezeichnet man als komplementbindende oder nach Neufeld und Haendel¹⁾ als „Bordetsche“ Antikörper. Von ihnen wird im allgemeinen ausgesagt, daß sie das Komplement binden, in Wirklichkeit binden sie nur dessen Globulinteil, wie in neuerer Zeit gezeigt wurde²⁾. Das Endstück bleibt in seiner Funktionsfähigkeit unbeeinflusst. Die von uns mitgeteilten Tatsachen lehren also, daß in unserem Immunserum zwei gut abgrenzbare Funktionen zutage treten: 1) eine hämolytische und 2) eine andere, für die man den sogenannten „Bordetschen“ Antikörper verantwortlich machen kann. Wir wollen hier aber nicht die alte Streitfrage aufgreifen, ob Bordetscher Immunkörper und Ambozeptoren wesensverschieden sind. Wir lassen es dahingestellt, ob in unserem Serum nicht ein und derselbe Ambozeptor — in schwacher Konzentration — die Rolle des hämolytischen und — in starker Konzentration — die des komplement-(mittelstück-)

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 28, 1908, Heft 1.

2) Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 41, und Skwirsky, diese Zeitschr., Bd. 5, 1910.

bindenden Antikörpers übernehmen kann. Die Hauptsache bleibt: das Immunserum hat in einer Konzentration eine stark hämolytische Kraft entfaltet, wo keine Spur einer Komplementbindung zu erkennen war. Sprechen wir im folgenden von „hämolytischem Ambozeptor“ im Gegensatz zu „Bordetschem Antikörper“, so ist damit nur die Präzisierung zweier verschiedener Funktionen beabsichtigt (Hämolyse — Komplementbindung), denn dazu halten wir uns berechtigt, infolge der Feststellung, daß es eine Hämolyse ohne Komplementbindung gibt.

Ist nun die Funktionstüchtigkeit des hämolytischen Ambozeptors ohne die mittelstückbindende Eigenschaft des Bordetschen Antikörpers nicht zu leugnen, so ist die Besprechung dreier Punkte notwendig: 1) in welcher Weise die Natur des Bordetschen Antikörpers hervortritt, 2) die quantitativen Beziehungen zwischen ihm und dem hämolytischem Ambozeptor, 3) der Einfluß des Bordetschen Antikörpers auf die Hämolyse.

1. Das Hervortreten der Eigenschaften des Bordetschen Antikörpers in unserem Immunserum.

a) Brand und Hecker haben bei der von ihnen angewandten Konzentration des Immunserums eine Bindung des Mittelstücks wahrgenommen. Wir konnten das gleiche berichten, zugleich jedoch konstatieren, daß bei geringerer Konzentration des immunkörperhaltigen Serums die Hämolyse zwar rasch von statten ging, die Bindung des Globulinteils dagegen vollkommen versagte. Um diese Erscheinung zu verstehen, müssen wir uns daran erinnern, daß der Bordetsche Antikörper zur Ermöglichung seiner Wirkung im allgemeinen ein quantitatives Ueberwiegen im Verhältnis zum Antigen verlangt. Er ist also meist von der absoluten Menge des Immunserums weit abhängiger als der hämolytische Ambozeptor.

b) In einem oben erwähnten Versuch war nach 15 Min. keine Bindung des Mittelstücks zu bemerken, obschon die Hämolyse nur 3 Min. benötigte. Das Zustandekommen der Verbindung zwischen Antigen und Bordetschem Antikörper sowie deren komplementbindende Wirkung erfordert eben gewöhnlich eine nicht zu kurz bemessene Zeitdauer — im Gegensatz zur Hämolyse durch ambozeptorreiches Serum.

c) Bei Hecker ging die Bindung des Mittelstücks auch in der Kälte vor sich. H. Sachs und Bolkowska¹⁾ beobachteten denselben Vorgang

1) l. c., p. 6.

mit dem Globulinteil des ungespaltenen Komplementes; wir konnten dies bestätigen. Die genannten Autoren neigen deshalb zu der Auffassung, daß bei 0° die Hämolyse nicht wegen der Unfähigkeit des Mittelstücks, mit den Blutzellen in Verbindung zu treten, ausbleibt, sondern weil die Kälte der Wirkung des Endstücks hinderlich ist.

Wir werden jedoch in einem späteren Abschnitt beweisen, daß bei möglichster Ausschaltung der Komplementbindung gerade das Mittelstück in der Kälte außerstande ist, mit den sensibilisierten Erythrocyten zu reagieren. Hingegen wissen wir, daß der Bordetsche Antikörper auch bei 0° aktiv ist.

2. Die quantitativen Beziehungen zwischen dem hämolytischen Ambozeptor und dem Bordetschen Antikörper im Immunserum.

Aus unseren früheren Angaben ist zu ersehen, daß in den verwendeten Mengen des Immunserums einer Ziege nur äußerst geringe Mengen des Bordetschen Antikörpers enthalten waren. Denn sogar 70 Ambozeptoreinheiten bewirkten nur die Bindung einer Spur des Mittelstücks. Das ist jedoch nicht auffallend. Mit dem Ausdruck „70 Ambozeptoreinheiten“ ist nichts über die absolute Menge des Serums ausgesagt, und oftmals tritt, wie ausgeführt, der Bordetsche Antikörper erst bei ziemlicher Konzentration des Immunserums zutage. Indessen gibt auch die absolute Serummenge keinen allgemein gültigen Aufschluß über die Intensität der komplementbindenden Substanz. Jedenfalls besteht kein konstantes Quantitätsverhältnis zwischen dem hämolytischen Ambozeptor und dem Bordetschen Antikörper in den einzelnen Seren.

3. Der Einfluß des Bordetschen Antikörpers auf die Hämolyse.

Ist auch die bei höherer Konzentration des Immunserums beobachtete Bindung des Mittelstücks ein von der Hämolyse ursächlich unterschiedenes Phänomen, so kann dessen Hineinspielen auf den Gang der Blutauflösung doch bedeutsam einwirken. Auf solche Weise kann das typische, von keinem

Nebeneinfluß getrübt Bild der Hämolyse entstellt und Anlaß zu Irrtümern geboten werden. Die Funktion des Bordetschen Antikörpers kann in zweierlei Hinsicht sich geltend machen: a) in hindernder, b) in fördernder.

a) Man denke sich, unser Serum enthielte — entgegen der Wirklichkeit — komplement-(mittelstück-)bindende Substanz in reicher Menge (bei den verwendeten Dosen). Wir machen nun bei starker Sensibilisierung einen Verbrauchsversuch, derart, daß wir mehr oder weniger lange Zeit nach geschehener Auflösung einer gewissen Blutmenge eine neue Dosis sensibilisierter Blutkörperchen hinzutun. Setzen wir den Fall, die Hämolyse dieser zweiten Ration unterbliebe, so wären wir zu der Annahme geneigt, das Komplement sei zur Hämolyse „verbraucht“. Tatsächlich läge es dagegen im Bereich der Möglichkeit, daß nur ein Bruchteil des Komplementes wirklich zur Hämolyse gebraucht, die Hauptmasse aber infolge Bindung des Mittelstücks durch den Bordetschen Antikörper zu jeder weiteren hämolytischen Funktion unbrauchbar geworden sei. Bei gleichzeitigem Zusatz der gesamten Blutmenge fällt diese Befürchtung fort, weil von Anfang an das Mittelstück auf die vorhandenen Blutzellen einwirkt.

b) Der fördernde Einfluß der komplementbindenden, in diesem Fall nicht ablenkenden, sondern zulenkenden Substanz dürfte häufiger in die Erscheinung treten. Es ist ja auch klar, daß die Reaktion der Blutzellen mit dem Mittelstück durch Einwirkungen, die eine innige Verbindung der reagierenden Teile schafft, wesentlich unterstützt werden kann. Als Beispiel mögen die Untersuchungen von Friedberger und Moreschi¹⁾ und Friedberger und Bezzola²⁾ dienen. Diese Autoren sahen unter dem Einfluß eines gegen die verankerten Ambozeptoren gerichteten Präzipitins eine wesentliche Verstärkung der Hämolyse auftreten. Als Ursache nehmen sie die komplementzulenkende Wirkung des an den Blutkörperchen entstehenden Präzipitats an.

1) Centralbl. f. Bakteriologie, Bd. 45, 1907, Heft 4.

2) Centralbl. f. Bakteriologie, Bd. 46, 1908, Heft 5.

Wir haben oben einen Versuch angeführt, in dem wir mit 70-fachem Ambozeptor beladene Blutkörperchen und Mittelstück digeriert haben. Das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment löste sich in 12 Minuten auf. Hier könnte man meinen, es sei so viel Mittelstück gebunden, wie der mit gleicher Geschwindigkeit verlaufenden Hämolyse der Kontrollen entspricht. Wie falsch das wäre, zeigt folgender Vergleich.

Blutkörperchen werden mit fast 70-fachem Ambozeptor (1:30), von der Ziege stammend, beladen, nach 1^h 37° gewaschen, sodann mit so viel NaCl aufgeschwemmt, daß 1,0 ccm = 0,5 sensibilisierter Erythrocyten = "Blk." entspricht.

No.	NaCl	Blk.	Mittst.	Endst.	
a)	2,8	1,0	0,2	—	nach 2 ^h ungel.
b)	2,5	1,0	—	0,5	" 2 ^h Spur
1)	2,4	1,0	0,1	0,5	" 5' total gel.
2)	1,7	1,0	0,8 ¹ / ₁₀	0,5	" 10' " "
3)	2,0	1,0	0,5	0,5	" 12' " "
4)	2,4	1,0	0,1	0,5	nach ca. 2 ^h tot. gel.

Derselbe Versuch wird wiederholt mit der Abänderung, daß nach dem Zusatz des Mittelstücks eine 1-stündige Pause bei 37° eingeschaltet wird. Jetzt tritt die totale Lösung ein: in 1) nach 3 Min., 2) 3 Min., 3) 5 Min., 4) ca. 40 Min.

Also die lange Lösungszeit von 2 Stunden in 4 kommt teilweise daher, daß vorerst das Mittelstück von dem Bordet-schen Antikörper fester gebunden wird (hierzu ist eine längere Zeit erforderlich, wie noch gezeigt werden wird).

Hätte man nun „Blutkörperchen“, z. B. mit 0,5 ¹/₁₀ Mittelstück digeriert, abzentrifugiert und gefunden, daß der Bodensatz sich nach Zufügung von Endstück nach etwa 40 Minuten auflöst, so wäre man versucht, zu glauben, die Menge des gebundenen Mittelstücks liege nicht allzuweit von 0,5 ¹/₁₀; diese Berechnung wäre jedoch, wie man sieht, falsch. Da übrigens das Mittelstück im Verhältnis zum Serum 10-fach verdünnt ist, so bedeutet 0,1 ¹/₁₀ in Wirklichkeit = 0,001 Mittelstück.

IV. Ueber die Reaktion zwischen Blutkörperchen und Mittelstück.

Bei der geschilderten Lage der Dinge müssen wir fragen: trägt das „Mittelstück“ seinen Namen mit Recht? Muß es

überhaupt mit den sensibilisierten Blutkörperchen zuerst zusammentreten, bevor mit dem Endstück Hämolyse erzielt werden kann?

Diese Frage ist zu bejahen! Das geht im Grunde aus den Untersuchungen Brands schon mit Sicherheit hervor, auch wenn die Ansichten dieses Autors von der Bindung des Mittelstückes nicht zu Recht bestehen.

Eine andere Frage, die wir uns nun ebenfalls vorzulegen haben, ist die, ob nicht vielleicht das Mittelstück durch das Endstück irgendwie beeinflußt wird, in dem Sinne, daß nach ihrer Vereinigung das Mittelstück entgegen unseren bisherigen Beobachtungen sich nun doch (auch bei geringer Ambozeptormenge) an die Blutzellen bindet. Zur Entscheidung dieser Fragen bedienen wir uns dreier Beweismittel. Es sind das: 1) das Verhalten des sog. „Kochsalz-Mittelstücks“, 2) die Beeinflussung des Komplementes durch Cholesterin, 3) der Einfluß eines Antikomplementes.

1. Das Verhalten des „Kochsalz-Mittelstücks“.

Wie Brand beobachtet hat, geht das „Mittelstück“, in Kochsalzlösung mehrere Stunden aufbewahrt, eine merkwürdige Veränderung ein: wird es nämlich mit dem Endstück gemischt, so besitzt diese Mischung keine hämolytische Eigenschaft; wird aber das Mittelstück an erster Stelle den ambozeptorbeladenen Blutkörperchen zugesetzt, hernach das Endstück, so kommt es zur Hämolyse. Für das Endstück ist es gleichgültig, ob es besalzen oder unbesalzen lagert. Wir konnten zwar öfter die geschilderte Umwandlung des „NaCl-Mittelstücks“ auch vollständig vermissen, da es auch nach mehrtägigem Lagern, mit dem Endstück einige Zeit digeriert, prompte Hämolyse bewirkte. Aber für die meisten Fälle trifft die Darstellung Brands durchaus zu.

Um der dem „Kochsalz-Mittelstück“ und Endstück innewohnenden ungeschwächten Kraft zur Wirkung zu verhelfen, ist es nötig, an erster Stelle das Mittelstück zu den ambozeptorbeladenen Blutkörperchen zuzusetzen, erst in einem größeren oder kleineren Zeitabstand darf das Endstück nachfolgen. Denn offenbar hat der Globulinteil infolge seines

Aufenthaltes in Kochsalzlösung nicht allein eine bedeutende — die Hämolyse schädigende — Anziehungskraft für das Endstück erlangt, sondern auch eine Einbuße an Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber den Blutkörperchen erlitten. Der Summationseffekt dieser beiden Momente kann so stark sein, daß bei unmittelbar aufeinanderfolgendem Zusatz der 3 Komponenten (sensibilisierte Erythrocyten, Mittelstück, Endstück) die Hämolyse unter Umständen eine große Verzögerung, sogar vollständige Hemmung erfährt, selbst wenn alle beteiligten Substanzen vorher auf 37° erwärmt sind.

Nur wenn das Kochsalz-Mittelstück einige Zeit allein auf die sensibilisierten Zellen eingewirkt hat, kann man mit Endstück eine gute Lyse herbeiführen.

Die Eigenschaften des NaCl-Globulinteils lehren daher in unzweideutiger Weise: das „Kochsalz-Mittelstück“ tritt zu den sensibilisierten Blutkörperchen überhaupt in Beziehung, und zwar für sich allein, ohne Mitwirkung des Endstückes (wie dies Brand zuerst feststellte).

Ein Einwand könnte gemacht werden: vielleicht hat das Mittelstück in der Kochsalzlösung einen Hemmungsstoff aufgenommen, von dem es durch die ambozeptorvorbehandelten Erythrocyten auf irgendeine Weise befreit wird; erst jetzt vereinigt es sich mit Endstück, und erst jetzt kann es hämolytisch funktionieren. Wir haben jedoch gezeigt, und werden noch eingehender zeigen, daß der verwendete Globulinteil nur zu einem Bruchteil an dem eigentlichen hämolytischen Vorgang teilnimmt. Die hypothetische restitutio ad integrum des „Kochsalz-Mittelstücks“ könnte sich also nur auf einen Teil davon erstrecken, und zu diesem verjüngten Teil müßte das Endstück eine größere Affinität haben als zu der NaCl-Modifikation.

Einer derartigen Auffassung widerspricht aber die von Hecker mitgeteilte¹⁾ Tatsache, derzufolge sogar das Endstück des intakten Komplements der Avidität des NaCl-Globulinteils nicht widersteht. Der experimentelle Gegenbeweis ist ebenfalls leicht.

1) l. c., p. 1.

Wir haben sensibilisierte Blutkörperchen 1 Stunde bei 37° mit „Kochsalz-Mittelstück“ digeriert, dann abzentrifugiert; der Abguß, mit Endstück gemischt, löste frische ambozeptorbeladene Blutkörperchen nicht auf. Wir haben diesem Versuch noch eine deutlichere Form gegeben: Blk. + Amb. + NaCl-Mittst. wurden eine Zeitlang bei 37° gehalten, dann wurde das Röhrchen mit Leitungswasser abgekühlt, mit Endstück versehen und einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen gelassen; wurde es darauf in das Wasserbad zurückgesetzt, so unterblieb die Hämolyse entweder ganz oder brachte es jedenfalls nicht zur Totalität. (Das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment der ersten Blutkörperchen wurde natürlich durch neues Endstück nicht aufgelöst.)

Noch eins geht aus dem Mitgeteilten hervor: hat einmal die Reaktion zwischen „Kochsalz-Mittelstück“ und Blutkörperchen stattgefunden, so muß mit diesen das Endstück mit großer Begierde in Verbindung treten; wenn nicht, dann hätten wir stets ähnliche Verhältnisse wie in dem Fall, wo alle Komponenten gleichzeitig gemengt werden und wo die Hämolyse in ihrem Zustandekommen ganz oder sehr gehindert wird. In der Tat: digeriert man zunächst Blutkörperchen, Ambozeptor und „Kochsalz-Mittelstück“ einige Zeit bei 37°, fügt zu der warmen Suspension ebenfalls angewärmtes Endstück, kühlt sofort ab und läßt das Ganze eine Zeitlang bei Zimmertemperatur stehen, so kommt es mitunter schon hier zu einer deutlichen Hämolyse, die nach Einbringung des Röhrchens in das Wasserbad meist gut fortschreitet.

Das Verhalten des „Kochsalz-Mittelstücks“ stellt gewissermaßen einen pathologischen Fall dar, der — wie so oft — ein dankenswertes Licht auf die normalen Vorgänge wirft. Die folgenden Ausführungen bilden die Ergänzung nach der normalen Seite hin.

2. Die Beeinflussung des Komplements durch Cholesterin.

Man hat nachgewiesen, daß von dem komplementhemmenden Einfluß des Cholesterins, den Landsteiner und Stankovic¹⁾ entdeckt haben, nur

1) Landsteiner und Stankovic, Centralbl. f. Bakteriöl., Bd. 42, 1906, p. 353.

das Mittelstück, das isolierte und dasjenige des intakten Komplements, betroffen wird, nicht das Endstück. Jedoch auch hier geht der Globulinteil, in Kochsalzlösung aufgelöst, allmählich eine Veränderung ein: das „Kochsalz-Mittelstück“ wird vom Cholesterin nicht gehemmt. Es besteht jedoch keine Parallelität zwischen dem Eintritt der NaCl-Veränderung des Mittelstücks gegenüber Blutkörperchen und Endstück, wie sie im vorigen Abschnitt auseinandergesetzt haben, und der Erwerbung der Unempfindlichkeit gegen Cholesterin. Die letzte Modifikation scheint weit weniger Zeit zu erfordern als die erste. Das geht so weit, daß man zuweilen eine spontane Reversibilität der Hemmung des Mittelstücks durch Cholesterin wahrnehmen kann. So haben wir einmal das frische Mittelstück durch 15 Minuten langes Digerieren mit Cholesterin vollständig inaktiviert, so daß nach Zusatz von sensibilisierten Blutkörperchen und Endstück die Hämolyse ausblieb. Zu einem Parallelröhrchen wurde das Gemisch von Mittelstück und Cholesterin außer den 15 Minuten bei 37° noch 1 Stunde bei Zimmertemperatur gehalten: hier war das Mittelstück gar nicht mehr gehemmt. Auf diese Verhältnisse ist also bei ähnlichen Versuchen zu achten.

Werden sensibilisierte Blutkörperchen, Cholesterin, Mittelstück und Endstück gleichzeitig gemengt, so wird die Blutauflösung mindestens gleichfalls unterbunden.

Der Leitgedanke bei den Versuchen, in denen die hemmende Eigenschaft des Cholesterins verwertet wurde, war nun einfach der: reagiert das (frische) Mittelstück schon für sich mit den ambozeptorbeladenen Erythrocyten, so darf das Cholesterin, einige Zeit nach dem Mittelstück, aber vor dem Endstück zugesetzt, keinen hemmenden Einfluß entwickeln; es sei denn, daß es imstande ist, die vollzogene Reaktion wieder rückgängig zu machen.

Das Cholesterin lösten wir erst in heißem Methylalkohol auf und stellten damit eine 0,1-proz. Aufschwemmung in 0,85-proz. Kochsalz her. Das zugesetzte Cholesterin trübt den Inhalt der Versuchsröhrchen nicht unerheblich, aber durch Vergleich mit Kontrollen wird das Urteil leicht ermöglicht. (Ambozeptor von Ziege wie oben.)

No.	NaCl	Mittst.	15' 37°	Cholest. 1/1000	15' 37°	15' 37°		2' 37°	Endst.
						Blk.	Amb. 1/800		
1)	1,5	0,5	+	0,5	+	0,5	0,5	+	0,5

nach 2^h ungelöst

Zu dem Mittelstück wurde hier erst nach 15 Min. 37° das Cholesterin zugefügt, um die gleichen Bedingungen wie im Hauptröhrchen 2 zu schaffen.

No.	NaCl	15' 37°		Mittst.	15' 37°	Cholest. 1/1000	15' 37°	NaCl	Endst.
		Blk.	Amb.						
2)	0,5	0,5	0,5	0,5	+	0,5	+	1,0	0,5

nach 20' total gelöst

Mittelstück und Endstück lösten jedes allein in den angewandten Dosen nicht, zusammen in 17 Min. Zentrifugierten wir aber in anderen Versuchen Röhrchen 2 vor Zusatz von Endstück und fügten zum Bodensatz den Albuminteil, so versagte die Hämolyse — wie zu erwarten ist.

Das Cholesterin hat also im Röhrchen 2 dem Globulinteil nichts mehr anhaben können. Daraus folgt: das Mittelstück reagiert für sich allein an erster Stelle mit den sensibilisierten Blutkörperchen (aber ohne sich deutlich zu binden). Hier muß bemerkt werden, daß diese Reaktion des Mittelstücks nur mit sensibilisierten Blutkörperchen stattfindet. Digeriert man sogar intaktes Komplement mit ambozeptorfreien Erythrocyten eine Zeitlang bei 37°, dann kurze Zeit mit Cholesterin, so erfolgt auf Zusatz von Ambozeptor keine Hämolyse, obwohl dieser durch Cholesterin nicht beeinflußt wird. Das gleiche gilt für das „Kochsalz-Mittelstück“.

3. Die Beeinflussung des Komplements durch Antikomplement.

Das dritte Beweisstück steht uns infolge der antikomplementären Natur (Eigenhemmung) unseres Ziegenimmunsersums zur Verfügung. Ueber diese Eigenschaften der Sera und ihren Einfluß auf die zwei Komplementteile werden wir gesondert berichten. Hier mag die Erwähnung der Tatsache genügen, daß die Wirkung des Antikomplementes — besser der eigenhemmenden Stoffe des Serums — sich wieder nur gegen

das Mittelstück richtet, nicht gegen das Endstück. Dies hat Skwirsky¹⁾ an menschlichen Seren gefunden.

Wir können kurz sagen, daß hier dieselben Verhältnisse vorliegen wie beim Cholesterin. Sensibilisieren wir Blutkörperchen mit einer größeren Dosis des Ziegenserums, so tritt außer der Spur Mittelstück, die der Bordetsche Antikörper verankert, noch ein anderer Bruchteil in Reaktion mit den Blutzellen, bevor das Antikomplement zur Wirkung kommen kann. Und dieser reagierende, nicht gebundene Bestandteil des Mittelstücks ist fortan der anti-komplementären Schädlichkeit entzogen.

V. Abhängigkeit der Reaktion zwischen sensibilisierten Blutkörperchen und Mittelstück von Zeit und Temperatur.

Nachdem wir bewiesen haben, daß ambozeptorbeladene Erythrocyten und Mittelstück sich nicht im gewöhnlichen Sinne verbinden, dessen ungeachtet miteinander reagieren, gehen wir nunmehr zur Besprechung der Abhängigkeit dieser Reaktion von zwei Faktoren über: 1) Zeit, 2) Temperatur.

1. Abhängigkeit der Reaktion von der Zeit.

Daß die Reaktion zwischen sensibilisierten Blutkörperchen schneller von statten geht als die Bindung durch den Bordetschen Antikörper und die Wirkung des Antikomplementes, ist oben festgestellt; daß sie durch verschiedene Einflüsse verzögert werden kann, soll an dem Beispiel des „Kochsalzmittelstücks“ erläutert werden. Der frische Globulinteil scheint im allgemeinen sehr schnell zu den ambozeptorbeladenen Erythrocyten in Beziehung zu treten. Dies läßt sich wieder mit Hilfe des Cholesterins veranschaulichen.

Alle Substanzen wurden vor dem Zusatz auf 37° erwärmt, außer im letzten Röhrchen. Ambozeptor von der Ziege, etwa 6 Einheiten, wobei — vgl. oben — das Mittelstück nicht gebunden wird.

No.	NaCl	Blk.	$\frac{1}{1000}$ Amb.	Mittst.	37°	$\frac{1}{1000}$ Cholest.	15' 37°	End.	
1)	1,5	0,5	0,5	0,5	0'	0,5	—	0,5	n. 50' sehrschwach. gelöst
2)	1,5	0,5	0,5	0,5	1'	0,5	+	0,5	n. 10' total gel.
3)	1,5	0,5	0,5	0,5	3'	0,5	+	0,5	„ 12' „ „
4)	1,5	0,2	0,5	0,5	15'	0,5	+	0,5	„ 15' „ „

1) l. c. p. 10.

Bereits nach 1 Min. war eine Fühlungnahme zwischen Blutkörperchen und Mittelstück hergestellt, die den hemmenden Einfluß des Cholesterins vereitelt. — Immerhin wird man mit Schwankungen der Reaktionsgeschwindigkeit auch unter normalen Verhältnissen zu rechnen haben.

2. Abhängigkeit der Reaktion von der Temperatur.

No.	NaCl	15 Min. 30°		Mittst.	¹ / ₁₀₀₀ Cholest.	15'	Endst.
		Blk.	¹ / ₈₀₀ Amb.				
1)	1,5	0,5	0,5	0,5 30' 26°	0,5	26°	0,5
nach 1 Std. schwach gelöst							
2)	1,5	0,5	0,5	0,5 15' 37°	0,5	37°	0,5
nach 25 Min. fast total gelöst.							

Haben wir im vorigen Abschnitt gesehen, daß bei 37° die Reaktion schon in 1 Minute zur Tatsache wird, so machen wir hier die Erfahrung, daß bei 26° Blutkörperchen und Mittelstück auch in 30 Minuten es zu keiner Vereinigung gebracht haben, wenigstens bei geringer Ambozeptordosis.

Dies Verhalten stimmt aufs beste überein mit der von Ehrlich gefundenen Tatsache, daß Komplement nur bei höherer Temperatur mit den sensibilisierten Blutzellen reagiert. In neuerer Zeit ist dieser Behauptung entgegengetreten worden durch Neufeld und Haendel¹⁾, die zeigten, daß auch bei niederer Temperatur und Ambozeptorüberschuß Komplement sich bindet.

Nach unseren Versuchen ist es wohl berechtigt, anzunehmen, daß nicht die eigentliche Ambozeptorwirkung hierbei die Komplementbindung veranlaßt, sondern das Auftreten von sogenannten Bordetschen Antikörpern²⁾. Erst bei höherer Temperatur reagiert das Mittelstück mit der ambozeptorbeladenen Blutzelle und dann ist auch das Mittelstück dem Einfluß mancher Schädlichkeiten (Cholesterin, Antikomplement) entrückt.

1) l. c. und Haendel, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 28, 1908, Heft 3.

2) Dies ist auch die Ansicht von Neufeld und Haendel.

Zusammenfassung.

Zum Schluß möchten wir zu zeigen versuchen, welche Folgerungen sich aus den geschilderten Versuchen ergeben.

Um das festzustellen, müssen wir besonders das Verhalten des isolierten Mittelstücks, das des „Kochsalzmittelstücks“, der Cholesterin- und Erschöpfungsversuche berücksichtigen.

Die Beobachtung hat gezeigt, daß mit nicht allzuviel Ambozeptorserum präparierte Blutzellen das Komplementmittelstück nicht binden. Trotz Vermischung mit reichlichen Mengen des Mittelstücks erweisen sie sich nicht derart beeinflußt, daß sie durch Endstück zu lösen wären. Im Gegenteil enthält der Abguß ein scheinbar ungeschwächtes Mittelstück. Dieses wirkt also anscheinend, ohne sich dabei zu binden.

Wie sehr dies Verhalten zutrifft, zeigen ganz besonders die Erschöpfungsversuche: selbst ungemein große Mengen mäßig stark präparierter Blutzellen sind nicht imstande, meßbare Mengen Mittelstück zu ab- oder adsorbieren. Und doch besteht ganz sicher irgendeine Reaktion zwischen sensibilisierter Zelle und dem Mittelstück. Das zeigt bereits deutlich das von Brand und Hecker studierte Verhalten des sogenannten „Kochsalzmittelstücks“, das mit dem Endstück nicht vermischt werden darf, bevor es mit Blutkörperchen reagiert hat.

Das zeigen weiter unsere Cholesterinversuche. Die Hämolyse wird durch Cholesterin gehemmt, und diese Hemmung betrifft nur das Mittelstück (das frische). Doch tritt diese Cholesterinhemmung nicht ein, wenn das Mittelstück zuvor kurze Zeit mit der sensibilisierten Zelle gemischt gewesen ist. Ganz sicher also beeinflussen sich beide.

Und doch besteht keinerlei nachweisbare Bindung.

Nun liegt es nahe, anzunehmen, daß das Mittelstück vielleicht isoliert nicht gebunden wird, wohl aber, wenn man ihm das Endstück zufügt.

Das zu entscheiden sind auch die Cholesterinversuche geeignet, weil bei ihnen ja Mittelstück und Endstück gemischt werden. Es kommt dabei zur Hämolyse, obwohl eine Bindung des Mittelstückes durch das Cholesterin verhindert wird.

Aus diesen Versuchen mit Cholesterin (und ebenso dem „Kochsalzmittelstück“) folgt also, daß nur derjenige Teil des Mittelstücks für die Hämolyse in Betracht kommt, der mit den Blutzellen in Reaktion tritt. Dieser Teil ist aber unmeßbar klein, wie die Bindungsversuche gezeigt haben, das Mittelstück erinnert in dieser Hinsicht in seinem Verhalten an das von Fermenten. Der reagierende Bruchteil muß gleichwohl natürlich eine bestimmte Größe haben und ist von der Konzentration des Mittelstücks abhängig. Das ist der Grund, warum kleine Mengen des Mittelstücks langsamer lösen als große. Denn kleinere Dosen reagieren an sich nicht etwa langsamer, man kann sie noch so lange Zeit auf die sensibilisierten Erythrocyten einwirken lassen — der folgende Zusatz des Endstücks bringt die Hämolyse doch nicht schneller zustande, als hätte man beide Teile gleichzeitig zugefügt. Merkwürdig ist allerdings, daß in den Cholesterinversuchen der durch das Cholesterin gebundene Teil des Mittelstücks für die Konzentration anscheinend nicht verloren geht. Ähnliches gilt für das „Kochsalzmittelstück“.

Wird nun zur Hämolyse nur der direkt reagierende, verschwindend kleine Bruchteil des Mittelstücks verbraucht und sieht man trotzdem nach der Auflösung genügend großer Blutmengen das gesamte Mittelstück verschwinden, so muß dies auf einen sekundären Prozeß zurückgeführt werden, vielleicht auf die Bindung seitens der entstehenden Reaktionsprodukte. Dann aber haben wir einstweilen nicht das Recht, das Verschwinden des Endstücks anders zu erklären. Das Verhalten des Komplementes würde auch in dieser Hinsicht mit dem mancher Fermente übereinstimmen.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung der medizinischen Staatsanstalt in Stockholm.]

Bemerkungen in Bezug auf die Methodik zum Nachweis der Leukocytenbakterizidie.

Von Prof. Dr. **Alfred Pettersson**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Juli 1910.)

In der letzten Zeit wurde die Frage, ob die Leukocyten imstande seien, Bakterien zu vernichten, wieder lebhaft studiert. Im allgemeinen wird von den meisten Forschern, die damit beschäftigt waren, die Beteiligung der Leukocyten bei der Vernichtung gewisser Bakterien in der einen oder anderen Weise bejaht, während andere von den Leukocyten nicht beeinflusst werden. Einige verneinen freilich noch jede bakterientötende Wirkung seitens der Leukocyten. Der Hauptvertreter dieser Richtung ist bekanntlich v. Baumgarten. Vor einiger Zeit richtete er einen neuen Stoß gegen die Metschnikoffsche Phagocytoselehre. Er wiederholte dabei seine bekannten Behauptungen, daß die Leukocyten nur tote oder stark beschädigte, „moribunde“ Bakterien aufnehmen. Dies sucht er mit dem negativen Ausfall bakterizider Reagenzglasversuche mit lebenden Leukocyten zu beweisen. Trotzdem ausgiebige Phagocytose zu beobachten war, konnte er keine Abnahme der eingesäten Keime, Staphylokokken, Milzbrandbacillen und Tuberkelbacillen finden (1).

Es ist indessen ganz klar, daß man auf Grund der negativen Versuche im Reagenzglase keine Berechtigung hat, die Schutzwirkung der Leukocyten im Tierkörper zu verneinen. Ohne gleichzeitige Tierversuche lassen sich daraus keine sicheren Schlüsse in dieser Richtung ziehen. Nur das kann man sagen, wie Weil schon bemerkt hat, daß die Versuche Baumgartens gegen seine eigene Ansicht sprechen, daß die Leukocyten nur tote und absterbende Bakterien aufnehmen.

Ich veröffentlichte unlängst eine Untersuchung über die Einwirkung von Exsudatleukocyten auf den Milzbrandbacillus im Tierkörper (2). Daraus ging hervor, daß den Leukocyten

der gegen Milzbrandinfektion sehr empfänglichen Tiere Kaninchen und Meerschweinchen eine bedeutende Schutzwirkung zukommt. Bei subkutaner oder intraperitonealer Einführung der Milzbrandbacillen war es möglich, durch gleichzeitige Einführung von Leukocyten die Tiere vor Milzbrand zu schützen. Diese Leukocyten sind nun zu wirklicher Phagocytose von Milzbrandbacillen wenig befähigt, ihr „Umklammern“ der Bacillen dürfte jedoch in bezug auf bakterizide Wirkung der Phagocytose gleichzustellen sein.

• Andere Bakterien erleiden dagegen durch Kaninchenleukocyten wirkliche Phagocytose. Die Tuberkelbacillen z. B. werden von ihnen aufgenommen und ihre Virulenz wird, wie Kling (4) nachgewiesen hat, deutlich herabgesetzt.

In meinem Laboratorium hat sich Lindahl mit dem Studium der Einwirkung der Leukocyten auf die Infektionserreger im Auge beschäftigt. Es gelang ihm dabei nachzuweisen, daß die Leukocyten tatsächlich den Schutz gegen Staphylo-, Strepto- und Pneumokokken ausmachen. Ich gebe hier einige seiner Versuche wieder¹⁾.

Tabelle I.

Mit einer feinen Spritzenspitze wurde bei Kaninchen die vordere Kammer beider Augen punktiert. Das Kammerwasser durfte auslaufen. In jede Kammer wurde sodann eine bestimmte Menge (0,05 ccm) mit Bouillon verdünnter Bakterienkultur und gleich darauf in die eine Kammer frische gewaschene Kaninchenleukocyten (0,1—0,15 g) eingeführt. Aus der eingespritzten Menge Kultur gingen auf Platten etwa 2000 Kolonien von *Staphylococcus aureus* und etwa 4000 Kolonien von Pneumo- und Streptokokken auf. Die Tiere wurden nach einem oder nach 2 Tagen getötet und vom Inhalt beider Kammern eine Probe (1 Oese) zur Untersuchung des Bakteriengehaltes genommen.

Infektionsstoff	Zahl der Kolonien aus der Probe des mit Leukocyten behandelten Auges	Zahl der Kolonien aus der Probe des ohne Leukocyten behandelten Auges	Zeitpunkt der vorgenommenen Untersuchung
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1 280	48 Stunden
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	etwa 20 000	24 „
<i>Streptococcus</i>	0	8 000	24 „
<i>Pneumococcus</i>	0	> 30 000	24 „

1) Die Arbeit erscheint demnächst im Archiv für Augenheilkunde.

Durch andere Versuche wurde festgestellt, daß bei derartigen Injektionen von Kokken und Leukocyten die ersteren von den Leukocyten tatsächlich aufgenommen werden. Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß die Leukocyten im Tierkörper wirklich vollständige Bakterienvernichtung hervorrufen können. Offen ist nur die Frage, in welcher Weise sie die Beseitigung der Bakterien bewirken. Von Schneider wird behauptet, daß die Leukocyten bakterizide Stoffe sezernieren. In bezug auf die Staphylokokken verhält es sich nun wirklich so, daß das Kammerwasser nach Behandlung mit Leukocyten auf diese Mikroben keimfeindlich wirkt. Für Strepto- und Pneumokokken trifft dies, wie Lindahl durch genaue Untersuchungen festgestellt hat, nicht zu.

Nun würde man allerdings einwenden können, daß die Anwesenheit der Bakterien einen Reiz auf die Leukocyten ausübe, daß bei Anwesenheit der Infektionserreger eine Sekretion bakterizider Substanzen von Seiten der Leukocyten eintrete, die unter normalen Verhältnissen nicht stattfindet. Ich glaube auf indirekte Weise auch diese Möglichkeit ausschließen zu können. Die obengenannten Versuche wurden mit wenig virulenten Kulturen von Strepto- und Pneumokokken ausgeführt. Werden dagegen stark virulente benutzt, so tritt auch bei gleichzeitiger Injektion von Leukocyten Vermehrung der Kokken und Infektion ein.

Einem Kaninchen wurden in die eine vordere Augenkammer nach dem Auslaufen des Kammerwassers etwa 560 hochvirulente (tödliche Dosis für Kaninchen $\frac{1}{1.000.000.000}$ ccm) Pneumokokken und 0,15 g frische Kaninchenleukocyten injiziert. Am folgenden Tage enthielt eine Probe des Kammerinhalts unzählige Kokken. Das Tier ging in 30 Stunden ein. Einem anderen Kaninchen wurden in der gleichen Weise etwa 250 Pneumokokken und 0,15 g frische Kaninchenleukocyten injiziert. Am zweiten Tage hatte es unzählige Pneumokokken in der Kammer und ging am dritten Tage ein.

Würde wirklich eine Sekretion bakterizider Stoffe von den Leukocyten stattfinden, so kann diese nur von wenig virulenten oder avirulenten Kokken hervorgerufen werden, da nur diese getötet werden. Diese gehen aber nicht extrazellulär zugrunde, sondern werden von den Leukocyten aufgenommen, die virulenten werden aber nicht phagocytiert und vermehren sich. Da das Leukocytenextrakt tatsächlich bakterizide Wirkung entfaltet, während die Körperflüssigkeit solcher entbehrt, muß es

als vollauf berechtigt angesehen werden, die Keimtötung mit der Phagocytose in Kausalzusammenhang zu setzen.

Wie kommt es nun, daß die Leukocyten, die im Tierkörper Bakterienvernichtung leisten, im Reagenzglas aber gewöhnlich versagen? Dazu wirken sicherlich mehrere Ursachen zusammen. Erstens ist die Phagocytose in der Röhre unzeifelhaft öfters unvollständig. Da nun, wie ich früher nachgewiesen habe, die Leukocyten erst nach ihrem Absterben bakterizide Stoffe abgeben, so werden die nicht phagocytierten Bakterien von den bakteriziden Leukocytenstoffen nicht beeinflußt und vermehren sich deshalb ohne weiteres.

Die keimfeindlichen Stoffe sind ferner eng an das Protoplasma der Phagocyten gebunden. In gewissen Fällen lassen sie sich, wie Weil nachgewiesen hat, von diesen gar nicht trennen. Unter solchen Verhältnissen kann man mit Sicherheit annehmen, daß eine starke keimtötende Wirkung auf die aufgenommenen Bakterien nur bei kräftiger amöboider Bewegung des Protoplasmas der Phagocyten, so daß neue Protoplasteile mit ihnen in Berührung kommen, eintritt. Man braucht wohl nicht daran zu zweifeln, daß die Lebenstätigkeit der Leukocyten außerhalb des Körpers, wenn auch erhalten, doch stark herabgesetzt ist. Dabei werden die Protoplasmaströmungen bald abgeschwächt und hören allmählich auf. Dies muß bei der gewöhnlich sehr langsamen Wirkungsweise der Endolysine von Bedeutung sein. Eine gewisse Stütze für die Richtigkeit dieser Erwägungen bildet der Umstand, daß im Reagenzglase Extrakte aus den Leukocyten bisweilen viel stärker wirken als die gleiche Menge lebender Leukocyten, während im Tierkörper die lebenden Leukocyten gegen den Milzbrandbacillus bessere Schutzwirkung entfalten als das Leukocytenextrakt.

Tabelle II.

0,6 g Meerschweinchenleukocyten wurden in 2 ccm Bouillon aufgeschwemmt und in zwei Teile geteilt. Von der einen Hälfte wurde durch Einfrieren Extrakt hergestellt und die Leukocytentrümmer abzentrifugiert. Einsaat: *B. subtilis* Stockholm.

	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Bouillon		5 000	vermehrt
1 „ Leukocytenaufschwemmung	288—350	5 342	„
1 „ Leukocytenextrakt		56	46

Tabelle III.

0,68 g Katzenleukocyten wurden in 1,5 ccm Bouillon aufgeschwemmt und in zwei Teile geteilt. Der eine wurde wiederholt eingefroren. Einsaat: Pneumokokken.

	Sofort	Nach 5 Std.
1 ccm Bouillon	4070	6800
1 „ Leukocytenaufschwemmung	3688	5840
1 „ Leukocytenaufschwemmung, gefroren	4870	464

In diesen Versuchen, denen noch mehrere angefügt werden könnten, ist das Leukocytenextrakt der Aufschwemmung deutlich überlegen. Die Versuche wurden ohne Serum angestellt, da es darauf ankam, die keimtötende Wirkung der Leukocyten allein nachzuweisen. Die Abwesenheit des Serums setzt freilich die Phagocytose etwas herab, hebt sie aber keineswegs auf. Das Serum erhöht bekanntlich nicht nur die Phagocytose, sondern in manchen Fällen auch die Leukocytenbakterizidie bedeutend.

Vor 2 Jahren wurde von mir festgestellt, daß das inaktivierte Leukocytenextrakt durch Zusatz von frischem Extrakt reaktiviert werden kann. Kling (4) hat dies in meinem Laboratorium mit anderen Bakterien bestätigt. Ferner hat er nachgewiesen, daß inaktiviertes Serum durch Leukocytenextrakt und umgekehrt inaktiviertes Leukocytenextrakt durch frisches Serum sich reaktivieren lassen. Ersteres ist schon von Weil (5) mitgeteilt worden. Daraus dürfte man nun zu dem Schlusse völlig berechtigt sein, daß die Endolysine komplex sind. Nun hat auch Werbitzky (6) solche Reaktivierungsversuche angestellt; er setzte frische Leukocyten zu inaktivierten hinzu, konnte aber dabei nur negative Resultate verzeichnen. Dies kann aber nicht wunder nehmen. Ist meine Annahme richtig, daß die unbeschädigten Leukocyten keine bakteriziden Stoffe abgeben, so kann man schon von vornherein annehmen, daß mit dieser Anordnung der Reaktivierungsversuche positive Resultate kaum erhalten werden. Dies geht auch aus den folgenden Versuchen hervor. Statt Leukocytenextrakt ist Serum verwendet, da seine Ergänzung durch die Leukocytenstoffe für die hier behandelte Frage eben von Bedeutung ist. Außerdem läßt sich das Serum mit Leukocytenextrakt viel

leichter reaktivieren als das inaktivierte Extrakt der entsprechenden Leukocyten.

Tabelle IV.

Serum und 0,7 g Leukocyten vom Meerschweinchen. Von 0,6 g der letzteren wurden 1,2 ccm Extrakt hergestellt. Einsaat: *B. subtilis* Stockh.

	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum (MS)	1847	20 600	vermehrt
1 „ MS erwärmt $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56°	1740	10 000	„
1 „ Bouillon	1504	10 000	„
1 „ Bouillonleukocytenextrakt	2140	180	1
0,8 „ inakt. MS + 0,2 Leukocytenextrakt		568	146
0,8 „ inakt. MS + 0,2 Leukocytenaufschwemmung		7 250	20 000

Tabelle V.

Serum und 0,4 g Leukocyten einer Katze. Die Leukocyten wurden in 0,8 ccm Bouillon aufgeschwemmt, in zwei Teile geteilt und der eine von ihnen wiederholt eingefroren. Einsaat: *B. subtilis* Stockholm.

	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1,0 ccm Katzenserum (= KS)	1040	> 10 000	vermehrt
1,0 „ KS erwärmt $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 56	1296	10 000	„
0,8 „ KS inakt. + 0,2 Leukocytenaufschwemmung	1184	10 000	„
0,8 „ KS inakt. + 0,2 Leukocytenaufschwemmung gefroren	1360	544	324
1,0 „ Bouillon		> 10 000	vermehrt
0,8 „ Bouillon + 0,2 Leukocytenaufschwemmung		10 000	„
0,8 „ Bouillon + 0,2 Leukocytenaufschwemmung gefroren		3 052	> 10 000

Die Versuche Werbitzkys stehen keineswegs in Widerspruch zu der Beobachtung, daß die Leukocytenstoffe sowohl inaktives Serum als auch inaktiviertes Leukocytenextrakt reaktivieren können. Im Gegenteil, sie stimmen mit der Eigenschaft der Leukocyten, daß sie im intakten Zustande die bakteriziden Stoffe im allgemeinen nicht abgeben, vollständig überein.

Für die durch die Leukocyten im Tierkörper hervorgerufene Bakterizidie ist diese Zusammenwirkung von Serum und Leukocytenstoffen sicherlich von großer Bedeutung. Die Bakterien werden während ihres extracellulären Daseins mit

Serumbestandteilen beladen, die nach der Phagocytose ihre Vernichtung durch die Zellen bedeutend erleichtern. Um ein dem im Tierkörper ähnliches Verhältnis zu erreichen, muß also auch im Reagenzglase Serum zugesetzt werden. Ganz gleichartige Bedingungen wie im Tiere können jedoch nicht geschaffen werden, da die ununterbrochene Zufuhr von Körperflüssigkeit, wie sie an der Infektionsstelle stattfindet, im Reagenzglase unerreichbar ist.

Für die bessere Wirkung der Leukocyten im Tierkörper kommt schließlich noch ein Umstand in Betracht. Durch die Untersuchungen von Vaillard und Roget (1) ist es wohl bekannt, daß die Tetanussporen lange Zeit in den Phagocyten weilen, ehe sie zugrunde gehen. Während des langen intracellulären Aufenthalts der Keime fährt die Lebenstätigkeit der Zellen fort, und es liegt kein Grund vor, anzunehmen, daß die keimfeindlichen Stoffe während dieser Zeit nicht regeneriert würden. In ähnlicher Weise wie die Sporen verhalten sich auch mehrere Bakterien; ihre vollständige Abtötung erfordert eine verhältnismäßig lange Zeit. Außerhalb des Tierkörpers ist die Lebenslänge der Leukocyten sehr begrenzt, so daß sie sicherlich manchmal zugrunde gehen, ehe die Vernichtung der aufgenommenen Keime abgeschlossen wird.

Wenn wir also die angeführten Umstände: die unvollständige Phagocytose, die mangelnde Serumzufuhr, die herabgesetzte Lebenstätigkeit und die verkürzte Lebensdauer der Phagocyten außerhalb des Tierkörpers zusammennehmen, so kann es nicht wunder nehmen, daß die keimtötende Wirkung der Leukocyten im Reagenzgläschen öfters versagt, während sie im Tierkörper, wie die Tabelle I zeigt, tatsächlich vorhanden ist.

Bei den Untersuchungen über die keimtötende Wirkung der Leukocyten, die seit einiger Zeit in der hiesigen Anstalt angestellt wurden, benutzten wir auch *B. subtilis*, und zwar zuerst einen alten Stamm aus dem bakteriolog. Laboratorium des Karolinischen Instituts. Dieser wurde auch vom Extrakte der Meerschweinchenleukocyten im allgemeinen sehr deutlich beeinflußt.

Tabelle VI.

Serum und 0,75 g Leukocyten vom Meerschweinchen. Die Leukocyten wurden mit 2 ccm verdünnter Bouillon (1 Bouillon 0,4 NaCl-Lös.) extrahiert. Einsaat: *B. subtilis* Stockholm.

	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum	624	ca. 1 000	vermehrt
1 „ verdünnte Bouillon	432	> 10 000	„
1 „ Bouillonleukocytenextrakt	576	60	9
1 „ desgl. erwärmt $\frac{1}{2}$ Std. auf + 75	656	912	72

Um so überraschender kam in der Mitte vorigen Jahres die Angabe von Weil (5), daß *B. subtilis* von den Meerschweinchenleukocyten keine Einwirkung erfahre. Wir stellten deshalb sowohl mit dem Stamm von Weil, den er die Liebenswürdigkeit hatte, uns zu schicken, als mit einem aus Upsala erhaltenen neue Versuche an.

Tabelle VII.

Serum und 0,37 g Leukocyten vom Meerschweinchen. Die Extraktion wurde mit 1:3 verdünnter Bouillon gemacht. Einsaat: *B. subtilis* Weil.

	Sofort	Nach 6 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum	1024	> 5 000
1 „ verdünnte Bouillon	1264	> 10 000
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		172

Tabelle VIII.

0,4 g Meerschweinchenleukocyten mit gewöhnlicher Bouillon extrahiert. Einsaat: *B. subtilis* Weil.

	Sofort	Nach 6 Std.
1 ccm Bouillon	1248	> 10 000
1 „ Bouillonleukocytenextrakt	960	124

Tabelle IX.

Serum und 0,37 g Leukocyten vom Meerschweinchen. Extraktion der Leukocyten mit 1 ccm 1:4 verdünnter Bouillon. Einsaat: *B. subtilis* Upsala.

	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 24 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum	736	2 226	vermehrt
1 „ verdünnte Bouillon	832	> 10 000	„
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		560	38

Alle drei Subtilisstämmen haben sich also übereinstimmend verhalten. Es ist nicht leicht, zu sagen, warum meine Versuche andersartig ausfielen, als die von Weil. Die Einsaat war ungefähr gleich groß. Möglicherweise wurden von mir ein wenig mehr Leukocyten verwendet, und vielleicht stammten sie von kräftigeren Tieren. Ob nun *B. subtilis* von den Meerschweinchenleukocyten beeinflusst wird oder nicht, hat selbstverständlich an und für sich keine große Bedeutung. Ich habe die Sache nur deshalb erwähnt, weil sie zeigt, daß die morphologisch und kulturell verwandten *B. anthracis* und *B. subtilis* sich auch in bezug auf Empfindlichkeit gegen Serum- und Leukocytenstoffe ähnlich verhalten.

Zusammenfassung.

1) Die Leukocyten sind im Tierkörper, im Gegensatz zu der Behauptung Baumgartens, tatsächlich imstande, entwicklungsfähige Bakterien aufzunehmen und zu vernichten.

2) Ein negativer Ausfall bakterizider Reagenzglasversuche mit lebenden Leukocyten berechtigt nicht zu der Annahme, daß die betr. Leukocyten im Tierkörper nicht befähigt sind, diese Bakterien aufzunehmen und zu töten.

3) Meerschweinchenleukocyten sind auch allein ohne Serum imstande, *B. subtilis* zu vernichten.

Literatur.

- 1) v. Baumgarten, P., Verhandl. d. Deutsch. Pathol. Gesellschaft, Jahrg. 1908; Münch. med. Wochenschr., 1908.
- 2) Pettersson, Alfred, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 52.
- 3) Weil, E., Arch. f. Hyg., Bd. 71.
- 4) Kling, C. A., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 7.
- 5) Weil, E., Arch. f. Hyg., Bd. 70.
- 6) Werbitzky, F. W., Arch. f. Hyg., Bd. 70.
- 7) Vaillard und Roget, Ann. Past., Vol. 6, 1892.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität in Turin (Direktor: Prof. B. Morpurgo).]

Untersuchungen über die Komplementbindungsreaktion.

Von **G. Satta** und **A. Donati**, Assistenten.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Juli 1910.)

Da für das Verständnis des Wesens der Wassermannschen Reaktion bisher jeder Anhaltspunkt fehlt, so empfiehlt es sich vorläufig, nur Erfahrungen, welche die Komplementbindung unter verschiedenen Umständen berücksichtigen, zu sammeln, um das empirische Substrat für die künftige Theorie vorzubereiten.

Ueber einige solcher Erfahrungen werden wir in den folgenden Zeilen ganz kurz berichten.

Versuche mit nicht-luetischen Seris und gesteigerten Extraktmengen.

Zuerst haben wir uns mit einer schon seit einiger Zeit gestellten, aber noch nicht gelösten Frage beschäftigt, nämlich mit der Frage, ob die Blutplasmaveränderung, welche durch den syphilitischen Prozeß bedingt wird, „eine gänzlich neuartige ist oder eine quantitative Verschiebung normaler Verhältnisse bedeutet“ [H. Sachs¹⁾], d. h. ob sie qualitativer oder quantitativer Natur ist.

Es ist bekannt, daß man eine antikomplementäre Wirkung auch durch normale und insbesondere tierische Sera (Kaninchen, niedere Affen, Rinder) erzielen kann; daraus aber einen bestimmten Schluß ziehen zu wollen, ist kaum angängig, und zwar darum, weil der Nachweis noch nicht geliefert ist, daß die autoantikomplementäre Wirkung der tierischen Sera und das Komplementbindungsvermögen der syphilitischen Sera wesensgleich seien.

1) Handbuch der pathog. Mikroorg., Ergänzungsband, Heft 3.

Unsere Untersuchungen wurden von folgendem Gedankengang geleitet: Wäre die Veränderung des Blutplasmas bei den syphilitischen Individuen nur quantitativer Natur, so sollte man erwarten, daß es möglich wäre, durch Veränderung der Verhältnisse der Reaktion die komplementbindende Eigenschaft der nicht-syphilitischen Sera zutage zu fördern.

Daß dies in der Tat überhaupt erreichbar sei, ging ja schon aus früheren Versuchen ¹⁾ hervor, die uns gezeigt hatten, daß man durch Verlängerung der gegenseitigen Einwirkung der bei der Wassermannschen Reaktion beteiligten Substanzen auch mit einigen nicht-luetischen Seris eine komplette Hemmung der Hämolyse erreichen kann.

Zur weiteren Prüfung unserer Hypothese haben wir die Wirkung von gesteigerten Extraktmengen auf nicht-luetische Sera verfolgt. Die Menge des angewendeten Extraktes wurde so bemessen, daß die geringste oberhalb der höchsten für die Wassermannsche Reaktion nötigen, und die höchste innerhalb jener Grenze, bei welcher der Extrakt an und für sich nicht antikomplementär wirkt, stand.

Um die mehr oder weniger in menschlichen Seris vorhandenen natürlichen, gegen Hammelblut wirkenden Ambozeptoren auszuschließen, haben wir ausschließlich Rinderblutkörperchen angewendet.

In folgender Tabelle sind die mit 67 nicht-luetischen Seris erhaltenen Resultate übersichtlich zusammengestellt.

Klinische Diagnose	Hämolyse bei				
	0,5 E. ²⁾	0,6 E.	0,7 E.	0,8 E.	1,0 E.
Magenkrankheit	sehr stark	stark	Spur	0	0
? ³⁾	fast kpl.	fast kpl.	stark	Spur	0
Hemiplegie	leicht	0	0	0	0
Carcinom	"	Spur	0	0	0
"	Spur	0	0	0	0
"	"	0	0	0	0
?	fast " kpl.	fast kpl.	stark	0	0

1) Archivio per le Scienze mediche, 1910, Fasc. 4.

2) Alkoholischer Syphilisleberextrakt.

3) Die mit Fragezeichen bezeichneten Sera wurden uns ohne die klinische Diagnose der Krankheit des betreffenden Patienten eingesandt.

Klinische Diagnose	Hämolyse bei				
	0,6 E.	0,8 E.	1,0 E.	1,2 E.	1,4 E.
Hemiplegie	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
Ikterus	"	"	"	"	"
?	"	"	"	"	"
?	"	"	"	"	"
?	"	"	"	"	"
Oesophaguscarcinom	"	"	"	"	"
Hirntumor	"	"	"	"	fast kpl.
Melanosarkom	"	"	"	"	komplett
Morbus Friedereich	"	"	"	"	"
Syphilis ?	"	"	—	Spur	—
?	"	"	komplett	komplett	komplett

Klinische Diagnose	Hämolyse bei				
	0,6 E. 1)	0,8 E.	1,0 E.	1,2 E.	1,4 E.
Carcinom	komplett	sehr stark	—	—	—
Kystom	leicht	0	—	—	—
Uteruscarinom	fast kpl.	leicht	—	—	—
Magencarcinom	komplett	komplett	—	—	—
Hodencarcinom	"	"	—	—	—
Sarkom	"	"	—	—	—
Hemiplegie	"	"	—	—	—
?	"	"	komplett	—	—
Perniziöse Anämie	"	"	fast kpl.	—	—
Herzfehler	"	"	komplett	komplett	—
Hernie	"	"	"	"	—
Normalserum	"	"	"	"	—
Hodentuberkulose	"	"	"	"	—
?	"	"	"	"	—
Magendyspepsie	"	"	"	"	—
Normalserum	"	"	"	"	—
"	"	"	"	"	fast kpl.
"	"	"	"	"	komplett
?	"	"	leicht	0	0
?	"	sehr stark	stark	leicht	0
Carcinom	"	stark	0	0	0
Magenerkrankung	"	sehr stark	stark	Spur	0
?	"	"	leicht	0	0
Hernie	sehr stark	" stark	Spur	0	0
"	komplett	komplett	fast kpl.	leicht	0
?	"	"	komplett	komplett	komplett
?	"	"	"	"	sehr stark
?	"	"	"	"	komplett
Ikterus	"	"	"	"	komplett
?	"	fast kpl.	stark	leicht	0
?	"	0	0	—	—
Hemiplegie	"	komplett	komplett	—	—
Carcinom	"	"	"	komplett	komplett
Magenkrankheit	fast kpl.	sehr stark	stark	0	—

1) Alkoholischer Meerschweinchenherzextrakt.

Klinische Diagnose	Hämolyse bei				
	0,6 E.	0,8 E.	1,0 E.	1,2 E.	1,4 E.
?	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
?	"	"	"	"	"
?	"	"	"	"	"
?	"	"	"	"	"
Sarkom	"	"	"	"	"
Gallenblasen-Carcinom	"	"	fast " kpl.	leicht	"
?	Spur	0	0	0	0
Hydrops	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
?	"	"	stark	leicht	Spur
Mediastinaltumor	sehr stark	stark	leicht	Spur	0
Zungenepitheliom	komplett	komplett	komplett	komplett	fast kpl.
?	"	"	"	"	dgl.
?	"	"	"	"	"
Pyelonephritis	"	"	"	"	"
Pseudotumor cerebri?	"	leicht	Spur	Spürchen	0

Aus den verzeichneten Ergebnissen geht, betreffs der antikomplementären Wirkung der menschlichen inaktivierten nicht-syphilitischen Sera, in Anwesenheit des Extraktes, folgendes hervor:

1) daß die Steigerung der Extraktmenge, innerhalb der Grenze, bei welcher der Extrakt an und für sich nicht antikomplementär wirkt, bei einigen nicht-luetischen Seris komplette Hemmung der Hämolyse bewirkt;

2) daß die Sera von verschiedenen nicht-luetischen Individuen sich gegen Steigerung der Extraktmenge verschieden verhalten.

Demzufolge erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß die Veränderung des Blutplasmas der syphilitischen Individuen zwar quantitativer, aber nicht spezifischer Natur sei, insofern sie eine quantitative Verschiebung der bei anderen Zuständen vorkommenden Verhältnisse bedeutet.

Komplementbindung durch Globuline von nicht-luetischen Seris.

Aus den übereinstimmenden Untersuchungen von Micheli und Borelli¹⁾, Landsteiner und Müller²⁾, Gross und Volk³⁾, J. Bauer⁴⁾ wissen wir, daß das komplement-

1) Giorn. della Reale Accad. di Med. di Torino, 1908, No. 1—2.

2) Wien. klin. Wochenschr., 1908, No. 10.

3) Wien. klin. Wochenschr., 1908, No. 18.

4) Bioch. Zeitschr., Bd. 10.

bindende Agens derluetischen Sera mit den Globulinen fällbar ist. Es war also interessant, zu ermitteln, ob das Komplementbindungsvermögen der nichtluetischen Sera in Anwesenheit größerer Menge Extraktes dem Globulinpräzipitat anhaftete.

Zu diesem Zweck wurde die mit CO_2 fällbare Globulinfraction auf ihre antikomplementäre Wirkung in Anwesenheit gesteigerter Mengen Extraktes geprüft. Zugleich haben wir von einem jeden Serum das Komplementbindungsvermögen bestimmt.

Das Serum wurde mit destilliertem Wasser 10-fach verdünnt und bei einer bestimmten Menge der Flüssigkeit das Globulin mit einem CO_2 -Strom in einem Zentrifugierglas vollständig gefällt. Nach gründlichem Zentrifugieren haben wir das Globulin in einer der angewandten Menge der Flüssigkeit entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind aus der Tabelle auf p. 707 ersichtlich.

Daraus ergibt sich:

1) daß das Komplementbindungsvermögen der mit gesteigerten Mengen Extraktes behandelten nichtsyphilitischen Sera dem mit CO_2 gefällten Globulin anhaftet;

2) daß in manchen Fällen ein deutlicher Unterschied zwischen der antikomplementären Wirkung des Serums und jener der entsprechenden Globulinauflösung besteht.

Worauf die verschiedene Aktivität der Globulinauflösung und des Serums beruhe, kann man vorläufig nicht entscheiden. Vermutlich enthält das Serum mit dem Globulin nicht-fällbare, dem Komplementbindungsvermögen der Sera entgegenwirkende Substanzen. Ob das fehlende Komplementbindungsvermögen der Sera in Anwesenheit gesteigerter Mengen Extraktes einer besonders intensiv anti-antikomplementären Wirkung zuzuschreiben sei, bleibe dahingestellt.

Die Resultate aber dieser Versuche sprechen in gleichem Sinne mit jenen der zuerst berichteten. Sie lassen nämlich vermuten, daß die durch den syphilitischen Prozeß bedingte Blutplasmaveränderung eine quantitative Verschiebung der bei anderen Zuständen vorkommenden Verhältnisse bedeutet.

Hämolyse bei									
0,6 E. ¹⁾		0,8 E.		1,0 E.		1,2 E.		1,4 E.	
Serum	Globulin	Serum	Glob.	Serum	Glob.	Serum	Glob.	Serum	Globulin
komplett	komplett	komplett	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kompl.	kmpl.	komplett	komplett
"	"	"	"	"	"	"	f. kpl.	"	Spur
"	"	"	"	"	"	"	kmpl.	"	komplett
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	Spur	"	0	"	0
"	"	"	"	"	kmpl.	"	kmpl.	"	komplett
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
fast kmpl.	fast kmpl.	sehr stark	Spur	stark	0	0	0	0	0
komplett	komplett	komplett	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kompl.	kmpl.	komplett	komplett
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
Spur	sehr stark	0	leicht	f. kpl.	Spur	leicht	0	0	0
komplett	komplett	komplett	kmpl.	0	0	0	0	0	0
0 ²⁾	—	0	—	stark	leicht	kompl.	kompl.	komplett	komplett
sehr stark	sehr stark	stark	leicht	leicht	0	Spur	0	Spur	0
komplett	komplett	komplett	kmpl.	kmpl.	kmpl.	kompl.	kmpl.	sehr stark	sehr stark
"	"	"	"	"	"	"	"	komplett	komplett
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
"	"	leicht	leicht	Spur	leicht	Spürch.	0	0	0
0 ²⁾	—	0	stark	0	stark	0	leicht	0	Spur
0 ²⁾	komplett	0	kmpl.	0	kmpl.	0	kmpl.	0	fast kmpl.
0	"	0	"	0	"	0	"	0	komplett

Anhang.

Die Erfahrung, daß die wirksamen Stoffe der Syphilissera mit dem Globulin fällbar sind, ließ noch hoffen, über die Wirkungsweise des Extraktes orientierende Winke zu erhalten.

Diese Hoffnungen wurden leider nicht erfüllt. Nichtsdestoweniger berichten wir über einige in jener Richtung ausgeführte Versuche.

1) Alkoholischer Meerschweinchenherzextrakt.

2) Allein hemmendes Serum.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Einer bestimmten Menge mit destilliertem Wasser 10-fach verdünnten Syphilisserums wurde eine passende Menge alkoholischen Meerschweinchenherzextraktes hinzugefügt. Nach einer Stunde gegenseitiger Berührung haben wir das Globulin mit einem CO₂-Strom gefällt, zentrifugiert und mit einer der angewendeten Flüssigkeit entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Darauf wurde das Verhalten der Globulinauflösung wie das des Abgusses bei der Komplementbindung geprüft.

Nun hat es sich herausgestellt, daß während mit der Globulinauflösung eine komplette Hemmung der Hämolyse eingetreten, mit dem Abguß dagegen auch bei Anwesenheit von Syphilisserum keine Hemmung zu erzielen war. Bei dieser Gelegenheit haben wir die Erfahrung gemacht, daß in einer wäßrigen Verdünnung des Extraktes die Anwesenheit von verschwindenden kleinen Mengen Serums genügt, um durch CO₂ einen deutlichen Niederschlag hervorzurufen, mit welchem die wirksamen Stoffe des Extraktes niedergerissen werden.

Desgleichen führten die Versuche, durch Extraktzusatz das in destilliertem Wasser aufgeschwemmte Globulin zu aktivieren, zu keinem positiven Resultat.

Komplementbindung durchluetische und nicht-luetische Aethersera.

Von besonderem Interesse sind die Versuche von Pick und Příbram¹⁾, nach denen Syphilissera durch Aetherextraktion derart verändert werden, daß sie ohne Extraktzusatz antikomplementär wirken. Deswegen haben wir die Aetherversuche wieder aufgenommen und in verschiedenem Sinne erweitert.

Durch Vorversuche hatten wir uns überzeugt, daß es nicht unbedingt notwendig ist, die Sera in einem Apparat zu extrahieren, da das einfache Versetzen der Sera mit Aether vollständig genügt.

1) Bioch. Zeitschr., Bd. 9, Heft 5/6.

Ueber unsere zahlreichen Aetherversuche werden wir bald im Archivio per le Scienze Mediche ausführlich berichten und wollen wir uns vorläufig damit begnügen, die wichtigsten Schlußfolgerungen derselben sowie die von uns befolgte Versuchsanordnung anzugeben.

Methode: Einer 10-fachen Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung des Serums wurde Aether in Ueberschuß hinzugefügt und dann einige Stunden hindurch bald gründlich geschüttelt, bald nur durchgemischt. Nach einer bestimmten Zeit (zwischen 3 bis 48 Stunden) haben wir den Aether entfernt. In einigen Fällen wurde der überschüssige Aether zuerst ausgehebert und nachher der in Lösung befindliche Aether im Vakuum abgedunstet, in anderen die ganze Aethermenge direkt abgedunstet.

Schlußfolgerungen: 1) Die mit Aether behandelten Syphilissera wirken ausnahmslos an und für sich antikomplementär.

2) Die Aktivität eines und desselben Syphilisserums in den mit Ausheberung des Aethers vorbehandelten Proben ist dieselbe wie in den direkt abgedunsteten.

3) Die antikomplementäre Wirkung des Syphilisserums tritt nach verschiedener Dauer der Aethereinwirkung ein, und zwar nehmen einige Sera schon nach 3 Stunden Aethereinwirkung antikomplementäre Eigenschaft an, andere dagegen erst nach mehr als 24 Stunden. Es besteht kein regelmäßiges Verhältnis zwischen der Schnelligkeit der Entfaltung der antikomplementären Wirkung des Serums durch Aether und der Aktivität desselben Serums bei der Wassermannschen Reaktion.

4) Fügt man zu einer die Hemmung der Hämolyse nicht mehr bewirkenden Aetherserummengende für die Wassermannsche Reaktion zulässige Extraktmenge hinzu, so tritt komplette Hemmung ein.

5) Die Komplementbindung durch Aetherserum kommt auch bei 0° zustande.

6) Das auf 62° für eine halbe Stunde erhitzte und nachher mit Aether behandelte Syphilisserum zeigt keine antikomplementäre Wirkung.

7) Das mit CO₂ ausgefällte Globulin des mit Aether behandelten Syphilisserums, sowie die damit behandelte Globulin-

auflösung desselben Serums wirken an und für sich antikomplementär.

8) Das Aetherserum wirkt auf die Komponenten des Komplements in analoger Weise wie das mit dem Extrakt behandelte Serum. Es verschwindet nämlich das Mittelstück. Ob aber das Endstück immer vollständig unversehrt bleibt, ist nicht sicher zu behaupten, da die Hämolyse der persensibilisierten Blutkörperchen durch Aetherserum nicht immer so prompt zustande kommt wie durch das mit Extrakt behandelte Serum.

9) Einige nicht-luetische, mit Aether behandelte Sera wirken an und für sich antikomplementär.

10) Die nicht-syphilitischen Sera, die nach Aetherbehandlung komplementbindend wirken, dürften im allgemeinen zu denjenigen gehören, die ohne Aetherbehandlung bei starkem Extraktzusatz positiv reagieren.

11) Die Globuline der nicht-luetischen Sera, die, mit Aether behandelt, positiv reagieren, zeigen nach Aetherbehandlung antikomplementäre Eigenschaft.

Aus den angeführten Ergebnissen geht hervor, daß das Aetherserum sich in den von uns berücksichtigten Fällen bei der Komplementbindung genau so verhielt wie das mit Extrakt behandelte Serum, weiter, daß das Verschwinden des Komplements durch Aetherserum nicht das Resultat einer Antigen-Antikörperreaktion ist, wollte man nicht zu der bisher unbegründeten Annahme greifen, daß der Aether ein in gebundener Form zirkulierendes Antigen in Freiheit setzt.

Einwirkung der Verdünnung auf die Wassermannsche Reaktion.

Zuletzt haben wir uns mit der Frage beschäftigt, welchen Einfluß die Verdünnung des Extraktes und des Serums auf den Ausschlag der Wassermannschen Reaktion hat.

Um die Wirkung des Alkohols auszuschließen, kam immer eine wäßrige Emulsion des alkoholischen Meerschweinchenherzextraktes zur Verwendung.

In der nachstehenden Tabelle sind die diesbezüglichen Versuche zusammengestellt.

Menge des Serums ccm	Menge des Extraktes ccm	Menge des Kom- plementes ccm	Physiol. Kochsalz- lösung ccm		Hämo- lyse
0,02 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	—	Nach 1 Stunde Thermo- stat wurden 2 ccm auf 37° erwärmter physiol. Kochsalzlös. und 1 ccm mit 3 E. Ambozeptor sensibilis. Hammelblut- körperchen hinzugefügt	komplett
0,04 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	—		leicht
0,06 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	—		0
0,08 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	—		0
0,1 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	—		0
0,02 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	1	Nach 1 Stunde Thermo- stat 1 ccm physiolog. NaCl-Lösung + 1 ccm sensibilis. Hammelblut- körperchen hinzugefügt	komplett
0,04 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	1		„
0,06 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	1		„
0,08 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	1		„
0,1 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	1		stark
0,02 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	2	Nach 1 Stunde Thermo- stat 1 ccm sensibilisierte Hammelblutkörperchen hinzugefügt	komplett
0,04 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	2		„
0,06 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	2		„
0,08 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	2		„
0,1 (0,2)	0,2	0,1 (0,2)	2		„
—	0,2	0,02 (0,2)	0,2	Nach 1 Stunde Thermo- stat 2 ccm physiolog. NaCl-Lösung + 1 ccm sensibilis. Hammelblut- körperchen hinzugefügt	0
—	0,2	0,04 (0,2)	0,2		leicht
—	0,2	0,06 (0,2)	0,2		komplett
—	0,2	0,08 (0,2)	0,2		„
—	0,2	0,1 (0,2)	0,2		„
—	0,2	0,02 (0,2)	2,2	Nach 1 Stunde Thermo- stat 1 ccm sensibilisierte Hammelblutkörperchen hinzugefügt	0
—	0,2	0,04 (0,2)	2,2		leicht
—	0,2	0,06 (0,2)	2,2		komplett
—	0,2	0,08 (0,2)	2,2		„
—	0,2	0,1 (0,2)	2,2		„

Wie sich aus der Tabelle ergibt, hat die Konzentration der bei der Wassermannschen Reaktion verwendeten Substanzen einen merklichen Einfluß auf den Ausschlag der Reaktion in dem Sinne, daß bei einem Gesamtvolum von 0,6 ccm komplette Hemmung der Hämolysen mit einer Serummenge zu erzielen ist, die viel niedriger ist als diejenige, die zur Erzielung der Hemmung bei einem Gesamtvolum von 2,6 ccm nötig ist.

Zusammenfassung.

Die Resultate sind auf p. 705, 706, 709 zusammengestellt.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Untersuchungen über die Abspaltung des bakteriolytischen Immunkörpers.Von Dr. **Wilhelm Spät**,
k. und k. Regimentsarzt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Juli 1910.)

Bail und Tsuda¹⁾ haben in überaus zahlreichen Untersuchungen, welche der Frage der Entstehung von Gegenkörpern, namentlich der Erklärung des quantitativen Mißverhältnisses zwischen Antigen und Antikörper im behandelten Tierkörper galten, festgestellt, daß es im Reagenzglase ähnlich wie im Tierkörper (Pfeiffer und Friedberger) gelingt, den an Choleravibrionen gebundenen bakteriolytischen Immunkörper abzuspalten und in andere Flüssigkeiten, wie physiologische Kochsalzlösung und verschiedene normale Blutsera, zu übertragen, so daß letztere hierdurch befähigt werden, die gleichen Reaktionen auszulösen, wie das ursprüngliche Serum, dem der Immunkörper entstammt. Weiter geht aus den Versuchen von Bail und Hoke²⁾ hervor, daß die Reaktionsprodukte zwischen Serum und Cholerasubstanz, welche je nach der Art der Einwirkung in Form von Präzipitat oder als Rückstand aufgelöster Vibrionen erscheinen, noch in eine Reaktion mit Serum (Komplementbindung) zu treten imstande sind. Hiernach scheint es möglich, daß im Tierkörper eine solche Abspaltung stattfindet, wodurch die Bakterien oder überhaupt das Antigen frei und zu neuer Wirksamkeit befähigt wird. So wäre es verständlich, warum relativ geringe Mengen eines Antigens bedeutende Quantitäten von Gegenstoffen zu binden bzw. zu erzeugen vermögen.

Diese Befunde bilden den Ausgangspunkt nachstehender Untersuchungen. Wir suchten zu ermitteln, unter welchen Bedingungen die Abspaltung der bakteriolytischen Immun-

1) Diese Zeitschrift, Bd. 1, 1909, Heft 4 u. 6.

2) Archiv f. Hygiene, Bd. 64.

körper am günstigsten vor sich geht; ferner studierten wir das Verhalten dieser Immunstoffe in dem neuen Medium, endlich wollten wir der theoretisch so wichtigen Frage näher treten, ob und inwieweit die Reaktionsprodukte zwischen Serum und Bakteriensubstanz noch im Reagenzglase Immunkörper zu binden imstande sind. Die Versuche wurden ausschließlich mit Normalseris und Choleravibrionen ausgeführt.

I.

Die Abspaltung des bakteriolytischen Immunkörpers.

Wir suchten zunächst festzustellen, welchen Einfluß auf die Abspaltung die Sensibilisierung der Bakterien ausübt, und zwar, ob in dieser Hinsicht aktive und inaktive Sera ein gleiches oder ein verschiedenes Verhalten zeigen. Zu diesem Zwecke wurde

- a) 1 Agarkultur mit 12 ccm aktivem Rinderserum,
- b) 1 „ „ 12 „ inaktivem „ (56 °)

abgeschwemmt und eine Stunde bei 42° sensibilisiert. Hierauf wurde das Serum (Abguß a und Abguß b) klar abzentrifugiert, der Bakteriensatz gewaschen, behufs Abspaltung der bakteriolytischen Immunkörper mit je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt und unter häufigem Schütteln 1 Stunde bei 42° gehalten. Nach dem Zentrifugieren wurde die Wirksamkeit (der Gehalt an Immunkörpern) beider Sera nach der Sensibilisierung („Abguß“ a und b) sowie die der Kochsalzlösungen („Extrakt“ a und b), in denen die Abspaltung sich vollzogen hatte, geprüft, verglichen mit einem inaktiven nicht behandelten Rinderserum. Der Abguß a wurde nachträglich inaktiviert (1/2 Stunde bei 56°).

Eine besondere Aufmerksamkeit mußte bei diesen Versuchen dem Komplement zugewendet werden, da das Meeresschweinchenserum in der angewendeten Menge von 0,025 ccm öfter schon an sich Granulabildung erzeugte, häufig aber auch in derselben Dosis ganz unwirksam war. Wir haben deshalb jedesmal das Komplement austitriert, um die Menge entsprechend variieren zu können und außerdem die Kontrolle No. 21 eingestellt.

1) Abguß a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	Oese Agarkultur	+ 0,025	Komplement
2) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
3) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
4) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
5) Abguß b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
6) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
7) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
8) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
9) Extrakt a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
10) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
11) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
12) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
13) Extrakt b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
14) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
15) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
16) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
17) inakt. Rinderserum	0,1	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
18) " "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
19) " "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
20) " "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"
21) physiol. Kochsalzlösg.	0,1	+ $\frac{1}{10}$	"	+ 0,025	"

Die derart beschickten Röhrchen kamen auf eine Stunde in ein Wasserbad von 40° und das Resultat wurde durch Beobachtung der gefärbten mikroskopischen Präparate gewonnen. Es zeigten ¹⁾:

1) ++ und Agglutination	5) ++—+	9) +++	} und Agglutination
2) +—0	6) +—0	10) fast +++	
3) +—0	7) +—0	11) ++	
4) 0	8) +0	12) +	
12) +++	} und Agglutination	17) +++	} und Agglutination
14) +++		18) +++	
15) +++		19) +++	
16) fast +++		20) fast +++	
		21) 0	

Aus diesem Versuche ersieht man, daß die wirksamsten „Extrakte“ durch Abspaltung von mit inaktivem Serum sensibilisierten Vibrionen gewonnen werden. Diese Flüssigkeiten unterscheiden sich in ihrem bakteriolytischen Effekt gar nicht von nativem Serum. Sehr oft war ihre Wirkung sogar viel stärker, was nicht weiter befremden kann, wenn man bedenkt, daß der Immunkörpergehalt von 12 ccm Serum

1) Der Kürze wegen wird das Resultat nach Bail in folgenden Zeichen ausgeführt: +++ vollständige Granulabildung, ++ überwiegende Granulabildung, +± ungefähr gleichviel Granula und Vibrionen, + Vibrionen überwiegen, 0 nur Vibrionen. Die Zwischenstufen sind ohne weiteres verständlich.

in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung gleichsam konzentriert wurde. Daß die Menge des zur Sensibilisierung der Vibrionen verwendeten Serums in der Tat nicht ohne Einfluß ist auf die bakteriolytische Kraft der Extrakte, geht aus folgenden Versuchen hervor.

- a) 1 Kultur wurde mit 4 ccm aktiven Rinderserums
 b) 1 " " " 16 " " "
 c) 1 " " " 4 " inaktiven "
 d) 1 " " " 16 " " "

aufgeschwemmt und wie oben sensibilisiert und abgespalten. Die Abgüsse der aktiven Sera a und b wurden nachträglich inaktiviert.

1) Abguß a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	Oese Agarkultur	+ 0,025	Komplement
2) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
3) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
4) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
5) Abguß c	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
6) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
7) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
8) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
9) Extrakt a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
10) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
11) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
12) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
13) Extrakt c	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
14) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
15) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
16) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
17) Abguß b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
18) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
19) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
20) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
21) Abguß d	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
22) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
23) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
24) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
25) Extrakt b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
26) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
27) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
28) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
29) Extrakt d	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
30) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
31) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
32) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
33) inakt. Rinderserum	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
34) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
35) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
36) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
37) physiol. Kochsalzlösg.	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"

Nach 1 Stunde bei 40°:

1) ++	5) ++	9) fast +++	13) ++	17) ++
2) ++	6) ++	10) ++	14) ++	18) fast'++
3) +	7) ++	11) +	15) +	19) +
4) +	8) +	12) +—0	16) +—0	20) +
21) ++	25) +++	29) +++	33) +++	
22) +	26) fast +++	30) +++	34) +++	
23) +	27) ++	31) +++	35) +++	
24) +—0	28) +—0	32) fast +++	36) fast +++	
			37) 0	

Wir finden hier die stärkste Wirkung im Extrakt d, also in der Kochsalzlösung, in welcher die mit der größten Menge inaktiven Serums sensibilisierten Vibrionen zur Abspaltung gelangt waren.

Das gleiche Resultat konnte mit normalem Schweineserum erzielt werden, von welchem mit Rücksicht auf den etwas geringen Immunkörpergehalt größere Quantitäten zur Sensibilisierung genommen wurden.

a) 1 Kultur wurde mit 8 ccm aktivem Schweineserum	
b) 1 " " " 24 " " "	
c) 1 " " " 8 " inaktivem "	
d) 1 " " " 24 " " "	

aufgeschwemmt und wie früher behandelt.

1) Abguß a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	Oese Agarkultur	+ 0,025	Komplement
2) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
3) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
4) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
5) Abguß c	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
6) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
7) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
8) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
9) Extrakt a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
10) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
11) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
12) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
13) Extrakt c	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
14) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
15) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
16) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
17) Abguß b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
18) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
19) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
20) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
21) Abguß d	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
22) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
23) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
24) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
25) Extrakt b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,035	"
26) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
27) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
28) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"

29) Extrakt d	0,1	+ $\frac{1}{10}$	Oese Agarkultur	+ 0,025	Komplement
30) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
31) "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
32) "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
33) inakt. Schweineserum	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
34) " "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
35) " "	0,01	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
36) " "	0,005	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
37) physiol. Kochsalzlösg.	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"

Nach 1 Stunde bei 40°:

1) fast +++	5) ++	9) +++	13) ++	17) fast +++
2) ++	6) ++	10) fast +++	14) ++	18) ++
3) 0	7) fast ++	11) ++	15) +	19) ++
4) 0	8) +—0	12) ++	16) 0	20) +—0
21) ++	25) +++	29) +++	33) +++	
22) +	26) +++	30) +++	34) +++	
23) +—0	27) fast +++	31) +++	35) +++	
24) +—0	28) ++	32) fast +++	36) fast +++	
			37) 0	

II.

Im folgenden Versuch wurde das Verhalten der durch Abspaltung des bakteriolytischen Immunkörpers enthaltenen Flüssigkeit bei Erhitzung auf verschiedene Temperaturen geprüft. Die Gewinnung dieser „Extrakte“ geschah in der bereits angegebenen Weise: 3 Agarkulturen wurden mit 45 ccm inaktiven Rinderserums abgeschwemmt, 1 Stunde bei 42° sensibilisiert und zentrifugiert. Der gewaschene Bakteriensatz wird in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde bei 42° unter häufigem Schütteln digeriert und nach erfolgter Abspaltung klar zentrifugiert.

1) Extrakt	0,15	+ $\frac{1}{10}$	Oese Agarkultur	+ 0,025	Komplement
2) "	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
3) "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
4) Extrakt inaktiv. 56°	0,15	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
5) " "	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
6) " "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
7) Extrakt inaktiv. 66°	0,15	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
8) " "	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
9) " "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
10) inaktives Rind.-Ser. 56°	0,15	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
11) " "	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
12) " "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
13) inaktives Rind.-Ser. 66°	0,15	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
14) " "	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
15) " "	0,05	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"
16) physiol. Kochsalzlösg.	0,1	+ $\frac{1}{10}$	" "	+ 0,025	"

Nach 1 Stunde bei 40°:

1) +++	5) +++	9) 0	13) ++
2) +++	6) +++	10) +++	14) fast +
3) +++	7) ++	11) +++	15) 0
4) +++	8) fast +	12) +++	16) 0

Die durch Absprengung des bakteriolytischen Immunkörpers gewonnenen Flüssigkeiten unterscheiden sich bezüglich der Erhitzung in keiner Weise vom betreffenden Serum. Durch eine $\frac{1}{2}$ -stündige Erhitzung auf 56° bemerkt man keine Abschwächung der bakteriolytischen Kraft, welche erst bei 66° in beträchtlichem Maße zerstört wird.

III.

Nach der geschilderten Orientierung über das Verhalten des abgesprengten bakteriolytischen Immunkörpers wandten wir unsere Aufmerksamkeit der Frage nach dem weiteren Schicksal des zweiten Reaktionsproduktes zwischen Serum und Bakterien, und zwar den vom Immunkörper beraubten, sensibilisiert gewesenen Cholera-vibrionen in ihrem neuen, veränderten Zustande und den Präzipitaten zu. Nachdem aus den Versuchen Toyosumis bekannt ist, daß die sekundäre und selbst die tertiäre Cholerasubstanz (Granula bezw. Gewebsstaub) im Tierkörper wie ein Antigen wirken und Gegenstoffe produzieren kann, war es in theoretischer Beziehung interessant, ob auch im Reagenzglas diese Substanzen Immunkörper zu binden imstande sind. Das Verfahren, welches dabei eingeschlagen werden mußte, war sehr kompliziert. In erster Linie war es unser Bestreben, eine reine sekundäre Cholerasubstanz (nur Granula) in die Hand zu bekommen. Für diesen Zweck erwies sich das normale Rinder Serum als ungeeignet, weil es ungemein rasch, schon nach wenigen Minuten die Vibrionen auflöst, so daß nur wenige Granula und fast lauter minimalste, feine Staubkörnchen entstehen. Dagegen bewährte sich in dieser Hinsicht das normale Pferdeserum, dessen Einwirkung auf die Bakterien keine so stürmische ist, so daß der Moment, in welchem die Granulabildung vollendet ist und noch keine weitere regressive Umwandlung der Vibrionenleiber eingesetzt hat, mit Leichtigkeit wahrgenommen werden kann. Die Feststellung dieses Zeitpunktes geschah durch mikroskopische Beobachtung von Proben, welche in Intervallen von einigen Minuten entnommen wurden. Die gewonnenen Granula wurden gewaschen, durch Abspaltung vom bakteriolytischen Immunkörper befreit und schließlich mit inaktivem Pferdeserum zu

abermaliger Sensibilisierung in Berührung gebracht. Dieses Pferdeserum prüften wir dann auf etwaige Verluste an bakteriolytischen Immunkörpern, woraus der Schluß auf die Bindungsfähigkeit der Granula gezogen werden sollte.

Die ersten Versuche ergaben durchweg negative Resultate, da — wie sich später herausstellte — die Bindungskraft der sekundären und tertiären Cholerasubstanz gegenüber normalem Pferdeserum eine sehr geringe ist und daher verhältnismäßig sehr große Massen notwendig waren, um kleine Mengen von Pferdeserum merklich zu erschöpfen. Erst bei nachstehender Dosierung erhielten wir ein positives Ergebnis:

2 Röhrchen, enthaltend je 5 gut gewachsene Agarkulturen, welche mit je 5 ccm aktiven Pferdeserum abgeschwemmt waren, wurden so lange bei 42° gehalten, bis (etwa nach 15—20 Minuten) vollständige Granulabildung eintrat. Der abzentrifugierte und gewaschene Granulasatz des einen Röhrchens a wurde der Abspaltung in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung (1 Stunde bei 42°) unterworfen („Extrakt“ a), der des Röhrchens b nicht. Nach dem Abzentrifugieren des Röhrchens a wurden beide Granulasätze mit je 0,5 ccm (verdünnt) inaktivierten Pferdeserums eine Stunde bei 42° sensibilisiert und hierauf das Serum abzentrifugiert. Untersucht wurde der „Extrakt“ a (zur Feststellung der erfolgten Abspaltung) und die zur zweiten Sensibilisierung verwendeten Pferdesera (Abguß a und b) im Vergleich zu einem nativen nicht erschöpften Kontrollserum.

1) Abguß a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	Oese Agarkultur	+ 0,025	Komplement
2) „	0,05	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
3) „	0,01	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
4) „	0,005	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
5) Abguß b	0,1	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
6) „	0,05	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
7) „	0,01	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
8) „	0,005	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
9) Extrakt a	0,1	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
10) „	0,05	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
11) „	0,01	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
12) „	0,005	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
13) Pferdeserum	0,1	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
14) „	0,05	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
15) „	0,01	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
16) „	0,005	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„
17) physiol. Kochsalzlösg.	0,1	+ $\frac{1}{10}$	„	+ 0,025	„

Nach 1 Stunde bei 40°:

1) +—0	5) +++	9) +++	13) +++
2) +—0	6) +++	10) +++	14) +++
3) 0	7) +++	11) +++	15) +++
4) 0	8) +—0	12) +—0	16) +—0
			17) 0

47*

Wir sehen demnach, daß die Granulamasse nach Lossprenzung des bakteriolytischen Immunkörpers von neuem imstande ist, Immunstoffe aus einem Serum zu binden, so daß letzteres die bakteriolytische Fähigkeit für Cholera-vibrionen verliert (Abguß a).

Dagegen ergaben die Bindungsversuche mit Präzipitaten durchweg negative Resultate. Der Extrakt von 3 Kolleschen Schalen wurde mit der doppelten Menge von aktivem frischem Rinderserum versetzt, 1 Stunde bei 40° gehalten, wobei eine reichliche Ausflockung erfolgte. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert, gewaschen, der Abspaltung unterzogen und schließlich zur Prüfung der Bindungsfähigkeit mit ganz geringen Mengen von Pferdeserum (0,5 ccm verdünnt) behandelt. Trotz dieser großen Menge des Präzipitates, welches mit dem zu erschöpfenden Serum einen dicken Brei bildete, konnte eine Abschwächung dieses Serums in Vergleich mit einem nativen nicht nachgewiesen werden. Daraus geht hervor, daß das Cholera-Präzipitat vom normalen Pferdeserum keine Antistoffe mehr zu binden imstande ist. Wir wissen aber aus den Untersuchungen Weils¹⁾, daß dieses Präzipitat noch in hohem Maße befähigt ist, aus Immunserum die Gegenkörper zu entziehen, was sich ohne weiteres durch die höhere Avidität der Immunantikörper erklären läßt.

Zusammenfassung.

- 1) Der an Cholera-vibrionen gebundene bakteriolytische Immunkörper kann von diesen abgesprengt und in andere Flüssigkeiten übertragen werden, welche hierdurch die gleichen Reaktionen wie das ursprüngliche Serum auszulösen vermögen (Bail und Tsuda). Die Wirkung dieser „Extrakte“ ist am stärksten, wenn die Sensibilisierung der Bakterien mit inaktivem Serum erfolgt und steigt mit der Menge derselben.
- 2) Die durch Abspaltung gewonnenen Extrakte verhalten sich bei der Erhitzung genau wie die betreffenden Sera.
- 3) Die sekundäre und tertiäre Cholerastanz vermag im Reagenzglas Immunstoffe zu binden; Cholera-Präzipitate besitzen dagegen gegenüber Normalseris keine Bindungsfähigkeit.

1) Biochemische Zeitschr., Bd. 24, Heft 3—5.

Nachdruck verboten.

[Aus der dermato-urologischen Klinik der Kaiserl. Universität zu Kyoto, Japan (Direktor: Prof. Dr. U. Matsuura).]

Ueber die Komplementbindungsreaktion bei Lepra.

Von Dr. Koichi Nishiura.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Juli 1910.)

In der Literatur finden sich nicht so reichliche Angaben über Komplementbindungsverfahren bei Lepra. Die bezüglichen Versuche sind von verschiedenen Autoren auf verschiedene Weise angestellt worden.

Während die einen den Gewebsextrakt des Hautleproms als Antigen benutzen, arbeiten die anderen mit Extrakt vonluetischer Leber (wässerig oder alkoholisch) oder mit Extrakt von normalem menschlichen Herzen, von Meerschweinchenherz oder mit verschiedenen anderen Antigenen.

Zu den ersten gehört in erster Linie Eitner (1), der schon im Jahre 1906 in einem Fall von Lepra tuberosa die Komplementbindung nachwies, dann Slatinéanu und Daniélopolu (2), Gaucher und Abrami (3), Sugai (4), Ito-Inoue-Nakano und Oho (5), und zuletzt Akerberg, Almkvist und Jundell (6).

Die Ansichten über den Wert der Reaktion sind geteilt.

Zu den Forschern, welche mit nicht für Lepra spezifischen Gewebsextrakten arbeiteten, gehören Wechselmann und Meier (7), wiederum Slatinéanu und Daniélopolu (8), Eitner (9), Meier und Lie (10), auch Bruck und Gessner (11), Frugoni (13), Eliasberg (14), Oho und Ito-Inoue-Nakano (5), und zuletzt Akerberg, Almkvist, Sandmann und Jundell (6, 12). Diese Autoren sind alle der Ansicht, daß die Lepra tuberosa mit syphilitischen Antigenen und auch mit Tuberkulin (3, 5, 9, 15) in der überwiegenden Zahl der Fälle positiven Ausfall gibt. Bei Lepra nervorum weichen die Angaben weit voneinander ab. Während einige dieser Autoren positive Reaktion bekommen, haben die anderen ganz negative.

Eigene Versuche.

Ich habe die Komplementbindung bei 147 leprösen und 24 nicht-leprösen Sera untersucht. Es handelte sich meistens um Fälle, die im 4. japanischen Leprosorium zu Takamatsu aufgenommen sind, und um Kranke, welche die Universitätsklinik von Prof. Matsuura besuchten.

Was die Technik der Untersuchungen anbetrifft, kann ich dazu folgendes bemerken.

Als Reagentien dienten mir:

Antigen I. Dem Pulver der Lepraknoten, welche vorher von gesunden Gewebsteilen möglichst befreit und im Vakuum getrocknet sind, wird physiologische Kochsalzlösung, die zugleich 0,5 Proz. Karbol enthält, im Verhältnis 1:3 zugesetzt. Die Suspension wird 24 Stunden lang im Schüttelapparat kräftig durchgeschüttelt und bis zur völligen Klarheit abzentrifugiert.

Die wässerigen Extrakte der frischen nicht getrockneten Lepraknoten sehen milchig aus, sind opaleszent und haben starke alleinhemmende Wirkung gegenüber der Hämolyse. Weil die Leprabacillen, wie Tuberkelbacillen, mit Fetthüllen umgeben, gegen mechanische und chemische Eingriffe sehr gut geschützt sein sollen, ist die einfache Extraktion von frischem Gewebe unzureichend, um brauchbaren Extrakt von Leprabacillen zu gewinnen. Deshalb benutzte ich als Antigen stets den Extrakt der getrockneten und pulverisierten Lepraknoten oder ebenso bereiteter lepröser Leber.

Antigen II. Wässriger Extrakt (1:20) von getrockneter Leber, stammend von einer Leiche mit *Lepra tuberosa*. Das Organ war mit zahlreichen disseminierten, grauweißen, miliaren Knötchen besetzt und enthielt mikroskopisch sehr massenhafte Bacillen.

Antigen III. Ein Teil der oben genannten Leber wurde in frischem Zustand fein zermalmt, mit 10-facher Menge von absolutem Alkohol 24 Stunden lang extrahiert und abzentrifugiert.

Antigen IV. Alkoholischer Extrakt von normaler, menschlicher Leber, welcher, schon als Antigen bei ca. 50 syphilitischen Seris geprüft, gute Resultate gegeben hat.

Unter diesen vier Antigenen wurden die beiden wässerigen Extrakte als solche gebraucht, während die alkoholischen beim Gebrauch mit 4-facher Menge von 0,85-proz. Kochsalzlösung verdünnt wurden. Diese verdünnten alkoholischen und die wässerigen Extrakte zeigten in der Dosis 0,4 ccm keine Alleinhemmung der Hämolyse; deshalb habe ich immer mit 0,2 ccm gearbeitet.

Im Laufe meiner Versuche habe ich keine Veränderungen der Wirksamkeit der Antigene nachweisen können.

Antiserum. Das durch Aderlaß oder Blasenpflaster gewonnene Serum der Untersuchten wurde durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 56° C inaktiviert. Durch Vorversuch mit den Mengen von je 0,1, 0,2 und 0,3 ccm von einigen dieser Sera bemerkte ich, daß man mit 0,2 ccm als Testdosis

richtige Resultate bekommt. Die Krankenserum, die im IV. Japanischen Leprosorium zu Takamatsu entnommen wurden, hatte ich in einem Eisschrank mit nach Kyoto gebracht und hier sofort damit gearbeitet.

Komplement. Das frisch entnommene Meerschweinchenserum wird mit 0,85-proz. Kochsalzlösung 1:10 verdünnt und 0,5 ccm dieser Verdünnung wird gebraucht.

Hämolytischer Ambozeptor. Als hämolytisches Serum diente mir das inaktivierte Serum vorher mit Ziegenerythrocyten immunisierter Kaninchen. Jedesmal bestimmte ich durch Vorversuch diejenige Dose des hämolytischen Serums, die mit 0,3 ccm des oben genannten Komplements 1,0 ccm von 2,5-proz. Ziegenblutkörperchenaufschwemmung vollständig lösen kann. Als Testdosis nahm ich 3-fach lösende Menge Hämolysin.

Blutaufschwemmung. 1,0 ccm von 2,5-proz. Ziegenerythrocytenaufschwemmung, welche durch vorherigen Zusatz der bestimmten Menge des hämolytischen Serums sensibilisiert wird.

Anstellung des Bindungsversuches und Ablesung wie üblich.

Als Kontrolle führte ich auch solche Versuche mit nicht-leprösen Sera und außerdem noch immer mit folgenden Kontrollröhrchen aus.

- | | |
|---|------------------|
| 1) Serum + Komplement + Hämolysin + Blut | vollst. Hämolyse |
| 2) doppelte Testdosis Serum + Kompl. + Hämolysin + Blut | „ „ |
| 3) Antigen + Komplement + Hämolysin + Blut | „ „ |
| 4) doppelte Testdosis Antigen + Kompl. + Hämolysin + Blut | „ „ |
| 5) Komplement + Hämolysin + Blut | „ „ |
| 6) Komplement + Blut | Hemmung |
| 7) Hämolysin + Blut | „ |

Gleiches Flüssigkeitsvolum.

Resultate.

Bei der Zusammenstellung meiner Resultate habe ich die ganzen untersuchten Leprafälle in zwei klinische Formen eingeteilt, d. h. tuberöse und nervöse.

Die Tabelle I stellt die Reaktion bei tuberösen, die Tabelle II die bei nervösen Formen dar. In Tabelle III findet man die Resultate bei nicht-leprösen Seris. Am Ende jeder Tabelle werden die entsprechenden Prozentsätze der positiven und negativen Reaktionen hinzugefügt.

Wie es aus der Tabelle I (p. 724/25) ersichtlich ist, reagiert das Serum der Kranken mit Lepra tuberosa in der überwiegenden Zahl der Fälle auf die wässerigen, leprösen Antigene immer positiv. Und zwar kann man mit dem Extrakt von Lepraleber (86,5 Proz.) etwas höheren Prozentsatz als mit dem Knoten-

Tabelle I.

Name	Alter	Ge- schlecht	Art der Erkrankung	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber
T. H.	34	männl.	L. tub.	+	+	+	+
T. S.	16	"	L. tub. mac.	+	+	+	—
S. N.	30	"	dgl.	+	+	+	+
U. O.	22	"	"	+	+	+	+
J. Y.	29	"	L. tub.	+	+	+	+
K. H.	27	"	L. tub. mac.	±	+	—	—
D. M.	32	"	L. tub.	+	+	±	±
M. Y.	23	weibl.	L. tub. nerv.	+	+	+	+
G. W.	29	"	dgl.	+	±	+	+
J. H.	30	männl.	"	+	+	+	+
G. K.	53	"	L. tub. mac.	+	+	+	+
S. F.	17	"	dgl.	+	—	+	+
Y. N.	56	"	L. tub.	—	+	—	—
N. I.	31	"	dgl.	+	+	+	+
M. T.	52	"	"	+	+	+	+
G. K.	37	"	"	+	+	+	+
J. S.	35	"	"	+	+	+	+
K. H.	31	"	L. tub. mac.	+	+	+	+
O. O.	33	"	dgl.	+	+	±	±
M. K.	20	"	L. tub.	+	±	—	—
H. K.	37	"	dgl.	+	±	—	—
J. M.	31	"	"	±	+	±	+
T. F.	23	"	"	+	+	±	—
H. T.	27	"	"	+	+	+	±
I. A.	34	"	"	+	+	+	+
T. M.	59	"	"	+	+	+	+
S. I.	19	"	"	+	+	+	+
S. T.	22	"	"	+	+	+	+
H. H.	27	"	"	+	+	+	±
R. H.	20	"	"	+	+	+	+
I. U.	18	"	L. tub. nerv.	+	±	±	—
N. S.	41	weibl.	L. tub. mac.	+	+	+	±
K. Y.	17	"	dgl.	—	+	+	—
T. S.	37	männl.	L. tub.	+	+	+	—
G. T.	33	"	dgl.	—	+	—	—
S. N.	26	"	L. tub. nerv.	+	+	+	±
I. Y.	54	weibl.	L. tub. mac.	+	+	+	—
J. O.	18	männl.	L. tub.	+	+	—	—
J. Y.	47	"	L. tub. mac.	+	+	+	+
U. S.	27	"	dgl.	—	+	+	±
K. Y.	28	weibl.	L. tub.	±	+	+	+
Y. S.	27	"	L. tub. nerv.	+	+	—	—
S. E.	18	männl.	L. tub. mac.	+	+	+	—
I. D.	48	"	L. tub.	+	+	+	+
H. M.	31	"	dgl.	+	+	±	—
M. M.	26	"	"	+	+	±	—
J. U.	20	"	L. tub. mac.	+	+	+	—
Y. S.	23	"	L. tub.	+	+	—	—
K. I.	18	"	L. tub. mac.	+	±	±	—

Name	Alter	Ge- schlecht	Art der Erkrankung	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber
T. O.	23	männl.	L. tub. mac.	+	+	+	—
B. K.	31	"	dgl.	+	+	±	—
K. K.	12	"	L. tub.	+	+	—	—
S. T.	33	weibl.	L. tub. mac.	+	+	+	+
K. M.	34	männl.	dgl.	—	+	+	+
S. M.	33	"	L. tub.	—	±	—	—
A. N.	23	"	L. tub. mac.	±	+	+	+
S. Y.	24	"	dgl.	+	+	+	+
T. K.	34	"	"	+	+	+	+
J. S.	33	"	L. tub.	+	+	+	—
D. T.	38	"	dgl.	+	+	+	+
S. M.	34	"	"	—	—	—	—
H. I.	53	"	"	±	±	—	—
T. H.	46	"	"	+	+	—	—
K. T.	32	"	L. tub. nerv.	+	+	—	—
S. U.	31	weibl.	L. tub. mac.	+	+	—	—
T. I.	30	männl.	L. tub.	+	+	+	+
Y. W.	16	"	L. tub. mac.	+	+	+	+
Zusammen 67 Fälle				Fälle % + 55 = 82,1 — 7 = 10,4 ± 5 = 7,5	Fälle % + 58 = 86,5 — 2 = 3,0 ± 7 = 10,5	Fälle % + 43 = 64,2 — 15 = 22,4 ± 9 = 13,4	Fälle % + 31 = 46,3 — 29 = 43,3 ± 7 = 10,4

extrakt (82,1 Proz.) erzielen. Wenn ich meine Resultate mit denen von anderen Autoren vergleiche, ergibt sich:

Slatinéanu et Daniélopou	von 26 schweren Leprafällen	Knotenextr.	95,0 Proz. +
Jundell, Almkvist und Akerberg	{ von 11 L. tub.	{ " 0,2 ccm	63,6 " +
Nishiura	" 67 L. tub.	" " 0,15 "	54,5 " +
			82,1 " +

Mit alkoholischem Extrakt von Lepraleber bekommt man weit weniger positive Resultate als mit dem wässrigen; nämlich 64,2 Proz.

Mit den Antigenen, welche gewöhnlich bei der Syphilisdiagnose gebraucht werden, bekommen die Autoren folgende Resultate:

Eliasberg	von 31 Fällen	L. tub.	80,6 Proz. positiv
Jundell, Akerberg und Almkvist	" 19 "	" " "	21,0 " "
Bruck und Gessner	" 7 "	" " "	71,4 " "
Inoue, Ito Nakano	" 23 "	" " "	45,5 " "
Nishiura	" 67 "	" " "	46,3 " "

Tabelle II.

Name	Alter	Ge- schlecht	Art der Erkrankung	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber
N. S.	31	weibl.	L. nerv.	+	+	—	—
E. M.	37	männl.	L. mac.	+	+	+	—
K. S.	63	„	dgl.	—	—	—	—
B. T.	23	„	„	+	+	—	—
H. O.	31	weibl.	L. nerv.	—	—	—	—
T. M.	61	männl.	dgl.	+	+	—	+
J. K.	54	„	L. mac.	+	+	±	—
T. T.	39	weibl.	L. nerv.	+	+	—	—
W. N.	33	männl.	L. mac.	—	—	—	—
T. M.	46	„	L. nerv. mac.	—	—	—	+
K. T.	37	„	L. mac.	—	—	—	—
H. Y.	34	„	L. nerv.	±	+	—	+
*T. K.	17	„	L. nerv. mac.	± (+)	± (+)	± (+)	± (+)
T. F.	54	„	L. mac.	—	—	—	—
U. S.	27	„	dgl.	+ schwch.	+	—	—
*K. W.	66	„	„	± (+)	± (+)	± (+)	± (+)
S. S.	28	weibl.	„	—	—	—	—
N. O.	36	„	„	—	—	—	—
M. I.	26	männl.	„	—	—	—	—
Y. T.	33	weibl.	L. nerv. mac.	±	±	—	—
S. I.	37	männl.	L. nerv.	+	+	+	+
K. Y.	36	„	L. mac.	±	—	—	—
T. M.	38	„	dgl.	+	+	—	—
O. K.	25	„	L. nerv. mac.	—	—	—	—
S. I.	22	„	L. mac.	±	+	—	—
H. K.	56	„	L. nerv. mac.	—	—	—	—
K. F.	48	„	L. nerv.	—	+	—	—
T. H.	32	„	L. mac.	—	—	—	—
Y. I.	39	„	dgl.	+	+	—	—
Y. I.	21	weibl.	„	+	+	—	—
M. H.	48	männl.	L. nerv.	+	+	+	—
T. M.	23	weibl.	L. mac.	+	+	—	—
K. W.	51	männl.	dgl.	+	+	+	—
H. A.	38	„	L. nerv.	+	+	—	+
T. I.	36	„	L. mac.	+	+	+	+ schwch.
T. H.	56	weibl.	L. nerv. mac.	—	—	+	+
R. S.	31	männl.	L. mac.	—	±	—	—
R. T.	21	„	L. nerv.	—	—	—	—
Y. A.	16	weibl.	L. nerv. mac.	+	+	+	+
S. F.	35	„	L. mac.	—	+	—	±
Y. H.	25	„	L. nerv.	—	—	—	±
M. K.	32	männl.	L. nerv. mac.	—	+	—	—
T. M.	38	weibl.	L. mac.	+	+	+ schwch.	—
T. D.	21	männl.	dgl.	—	+	±	—
J. S.	35	„	L. nerv. mac.	+	±	±	—

Anmerkung: In den mit * bezeichneten Fällen zeigt ihr Serum in der Dosis 0,4 ccm oder sogar 0,2 ccm für sich allein vollständige Hemmung der Hämolyse.

Name	Alter	Ge- schlecht	Art der Erkrankung	Mit wässerig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässerig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber				
S. S.	21	weibl.	L. mac.	+	+	+ schwch.	+				
S. H.	22	männl.	dgl.	+	+	+	+				
G. T.	36	"	L. nerv.	+	+	--	--				
T. M.	39	weibl.	dgl.	—	+	+ schwch.	—				
S. N.	29	männl.	L. nerv. mac.	±	+	—	—				
K. Y.	18	"	L. mac.	+	+	+	—				
M. W.	31	weibl.	L. nerv. mac.	+	+	—	—				
M. K.	43	männl.	L. nerv.	—	—	—	—				
H. K.	39	"	L. nerv. mac.	—	+	—	—				
M. O.	48	weibl.	L. mac.	±	+	—	±				
K. I.	34	männl.	dgl.	+	+	+	+				
T. N.	46	weibl.	L. nerv.	—	±	—	—				
S. O.	49	männl.	L. mac.	+	+	—	—				
K. M.	32	"	dgl.	+	+	+	±				
T. Y.	43	weibl.	"	+	+	±	—				
Y. T.	17	männl.	L. nerv. mac.	+	+	+	—				
I. T.	34	"	dgl.	±	+	—	.				
H. H.	21	"	L. nerv.	+	+	.	.				
S. B.	28	"	L. mac.	.	—	.	.				
G. S.	35	"	L. nerv.	+	+	.	.				
H. Y.	44	weibl.	L. nerv. mac.	+	.	.	.				
R. Y.	27	männl.	L. mac.	—	.	.	.				
S. K.	21	weibl.	dgl.	+	+	.	—				
T. N.	31	männl.	L. nerv.	+	+	.	—				
M. H.	17	"	L. mac.	—	—	.	.				
Y. T.	19	"	dgl.	+	+	—	—				
N. O.	19	"	"	—	±	—	—				
R. Y.	17	"	"	—	—	—	—				
S. N.	44	"	"	±	±	—	.				
H. S.	35	"	L. nerv.	+	±	+	+				
K. S.	20	weibl.	dgl.	—	—	—	—				
A. N.	19	"	L. mac.	—	—	—	—				
Y. I.	37	männl.	dgl.	.	.	.	+				
K. O.	30	weibl.	L. nerv. mac.	.	.	±	.				
S. U.	22	männl.	dgl.	.	.	.	—				
Zusammen {				Fälle	%	Fälle	%	Fälle	%	Fälle	%
				37 =	48,7	44 =	58,7	16 =	23,0	13 =	18,5
				30 =	39,5	22 =	29,3	47 =	67,0	52 =	72,8
				9 =	11,8	9 =	12,0	7 =	10,0	6 =	9,7
				76 =	100,0	75 =	100,0	70 =	100,0	71 =	100,0

Aus Tabelle II geht hervor, daß es ungefähr bei der Hälfte von Fällen der Nervenlepra auf wässerige Extrakte von beiden spezifischen Geweben (Lepraleber und Lepraknoten) positive Reaktion gibt, und daß die Positivreaktion, wie es bei den tuberösen Formen der Fall ist, mit dem Leberextrakt etwas häufiger als mit dem Knotenextrakt eintritt.

Mit alkoholischem Extrakt der Lepraleber ist die Sero-reaktion bei nervösen Fällen nur in 23 Proz. positiv.

Die Angaben der Autoren, welche die Komplementbin- dung bei Lepra nervorum mit den gewöhnlich bei der Syphilis- diagnose gebräuchlichen Antigenen untersuchten, weichen stark voneinander ab.

Eliasberg	von 19 nervösen Fällen	15,78 Proz. positiv
Inoue, Ito und Nakano	„ 16 „ „	31,3 „ „
Nishiura	„ 17 „ „	18,5 „ „
Bluck und Gessner	„ 3 „ „	alle negativ

Aus der Tabelle IIIa ist es leicht zu ersehen, daß, während die Reaktion bei Lues und Luesverdacht auf den Knotenextrakt ganz negativ ist, sie mit den wässerigen und alkoholischen Extrakten der Lepraleber in 40,0 Proz. positiv ausfällt. Man dürfte also nicht mit Leberextrakten, sondern mit Knotenextrakten arbeiten, wenn man Syphilis von Lepra unterscheiden will, oder wenn man die Fälle mit Mischinfektion möglichst richtig diagnostizieren will.

Tabelle III a.

Name	Alter	Ge- schlecht	Art der Erkrankung	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber
T. N.	23	männl.	Verdacht auf Lues lat.	—	—	—	—
M. T.	52	„	I. Stad. der Syphilis	—	—	+	+
H. T.	58	„	Verdacht auf Syphilis	—	—	—	±
M. O.	32	„	Chancr mixta	—	—	—	—
M. N.	20	„	II. Stad. der Syphilis	—	—	—	+
S. T.	32	„	dgl.	—	+	+	+
K. H.	25	„	dgl.	—	+	—	+
M. F.	32	„	Chancr mixta	—	±	±	±
M. H.	32	„	III. Stad. der Syphilis	—	+	+	+
S. Y.	22	„	II. Stad. der Syphilis	—	+	+	+
Zusammen 10 Fälle				Fälle + 0 = 0,0	Fälle % 5 = 40,0	Fälle + 4 = 40,0	Fälle % 6 = 60,0
				Fälle — 10 = 100,0	Fälle % 4 = 50,0	Fälle — 5 = 50,0	Fälle % 2 = 20,0
				Fälle ± 0 = 0,0	Fälle % 1 = 10,0	Fälle ± 1 = 10,0	Fälle % 2 = 20,0

Tabelle III b.

Name	Alter	Ge- schlecht	Art der Erkrankung	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber
K. K.	9	männl.	cerebrale Läh- mung	—	—	—	—
Y. Y.	21	„	Filariasis	—	—	—	—
S. D.	35	„	akute Myelitis	—	—	—	—
H. N.	15	weibl.	chron. Ekzem	—	—	—	—
S. N.	23	„	Tuberkulid	—	—	—	—
K. Y.	24	männl.	Epididymit. gonorrh.	—	—	—	—
T. N.	19	weibl.	Lupus eryth. dissem. acut.	—	—	—	—
K. T.	22	„	Eryth. indur. Bazin.	—	—	—	—
U. T.	28	männl.	Sycosis vul- garis	—	—	—	—
R. N.	29	„	Alopecia are- ata	—	—	—	—
S. N.	32	„	dgl.	—	—	—	—
K. M.	30	„	Stricture ure- thrae	—	—	—	—
Zusammen 12 Fälle				Fälle % + 0 = 0 — 12 = 100,0 ± 0 = 0	Fälle % + 0 = 0 — 12 = 100,0 ± 0 = 0	Fälle % + 0 = 0 — 12 = 100,0 ± 0 = 0	Fälle % + 0 = 0 — 12 = 100,0 ± 0 = 0

Wie man aus der Tabelle III b sieht, reagieren die Sera, welche weder syphilitisch noch leprös sind, auf alle 4 Antigene immer negativ.

Tabelle III c.

Name	Alter	Ge- schlecht	Klinisch	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- knoten	Mit wässrig. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Lepra- leber	Mit alkohol. Extrakt von Normal- leber
K. M.	3	weibl.	gesund (Tochter der Pat. T. M.; L. mac.)	+			
Y. I.	13	männl.	gesund (Sohn des Pat. K. I.; L. mac.)	+	+	—	—

2 Kranke in der Tabelle IIIc leben mehrere Jahre hindurch mit vielen Leprakranken im Leprosorium zusammen, und zwar wurde sogar einer davon, ein Mädchen K. M., im Leprosorium geboren (von lepröser Mutter). Beide sind klinisch ganz gesund, doch ist ihre Seroreaktion auf Knotenextrakt schwach positiv. Vielleicht sind sie schon leprös infiltriert und befinden sich im Inkubationsstadium der Lepra. Weitere Verfolgung wird interessant sein.

Jundell, Almkvist, Sandmann und Eliasberg hatten schon berichtet, daß Lepraserum für sich allein häufig hämolysehemmend wirkt. Dies beobachtete ich auch bei 2 Fällen in der Tabelle II.

Zusammenfassung.

Die Resultate meiner Arbeit kann ich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

- 1) Die Komplementbindungsreaktion bei Lepra tuberosa auf verschiedene Antigene fällt immer viel häufiger positiv aus als bei den nervösen Formen.
- 2) Als Antigen für Lepranachweis ist der wässrige Extrakt besser als der entsprechende alkoholische.
- 3) Mit wässrigem Extrakt von einer Lepraleber kann man etwas höheren positiven Prozentsatz der Reaktion als mit dem von Lepraknoten bekommen. Jedoch empfehle ich den letzteren als Antigen besonders, weil die luetischen Sera auch sehr häufig auf den ersteren positiv, während sie auf den letzteren dagegen immer negativ reagieren.
- 4) In einer großen Anzahl der Fälle von Lepra, besonders bei tuberösen Formen, ist die Seroreaktion auf wässrigen Extrakt von Lepraknoten positiv und das Serum von allen nicht-leprösen Kranken gibt negative Reaktion. Also wird man einen Kranken für sehr verdächtig auf Lepra halten müssen, wenn sein Serum mit diesem Antigen eine positive Komplementbindungsreaktion gibt.
- 5) Die Sera von Leprösen zeigen oft Eigenhemmung der Hämolyse schon in kleinen Dosen.

Zum Schluß danke ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. U. Matsuura, für seine gütige Leitung und Anregung, sodann Herrn

Dr. H. Yoshida, dem Direktor des IV. Japanischen Leprosoriums, für viele mir zur Verfügung gestellte Fälle; und zuletzt auch meinem Kollegen Herrn Dr. S. Matsumoto für seine freundliche Beihilfe bei meiner Forschung.

Literatur.

- 1) Eitner, Ueber den Nachweis von Antikörpern im Serum eines Lepra-kranken mittels Komplementablenkung. Wien. klin. Wochenschr., 1906, No. 51.
- 2) Slatinéanu et Daniélopolu, Sur la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum des malades atteints de la lèpre. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 48, H. 4.
- 3) Gaucher et Abrami, Le sérodiagnostic des formes atypiques de la lèpre. Lepra, Vol. 8, 1909, Fasc. 3, p. 152.
- 4) Sugai, Zur klinisch-diagnostischen Verwertung der Komplementbindungs-methode bei Lepra. Arch. f. Derm. u. Syphilis, Bd. 95, 1909, p. 313.
- 5) Oho, Ueber die Komplementbindungsreaktion bei Lepra. Inoue, Ito und Nakano, Ueber die Seroreaktion bei Lepra. Japanische Zeitschr. f. Derm. u. Urolog., Bd. 9, 1909, H. 6.
- 6) Akerberg, Almkvist und Jundell, Weitere Beobachtungen über Wassermanns Serumreaktion bei Lepra. Lepra, Vol. 9, Fasc. 2.
- 7) Wechselmann und Meier, G., Wassermannsche Reaktion in einem Falle von Lepra. Deutsch. med. Wochenschr., 1908, No. 31.
- 8) Slatinéanu et Daniélopolu, Réaction de fixation avec le sérum et liquide céphalo-rachidien des malades atteints de lépra en présence de l'antigène syphilitique. Compt. rend. Soc. Biol., T. 65, 1908, No. 29.
- 9) Eitner, Zur Frage der Anwendung der Komplementbindungsreaktion auf Lepra. Wien. klin. Wochenschr., 1908, No. 20.
- 10) Meier, G. und Lie, Komplementbindungsverfahren bei Lepra. Berichte des II. Internat. Leprakongresses. Derm. Zeitschr., 1909, H. 10.
- 11) Bruck und Gessner, Ueber Serumuntersuchungen bei Lepra. Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 13.
- 12) Jundell, Almkvist und Sandmann, Wassermanns Syphilisreaktion bei Lepra. Centralbl. f. inn. Med., 1908, No. 48.
- 13) Frugoni, Syphilis und Lepra. Arch. f. Derm. u. Syphilis, Bd. 95, p. 223.
- 14) Eliasberg, Komplementablenkung bei Lepra mit syphilitischem Antigen. Deutsch. med. Wochenschr., 1909, No. 44.
- 15) Slatinéanu et Daniélopolu, Réaction de fixation dans le lèpre en employant la tuberculine comme antigène. Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biol., T. 65, 1908, No. 34.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Serobakteriologischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses in Stettin.]

Versuche über Komplementbindung bei Helminthiasis und über die chemische Natur des Bandwurmantigens.

Von Dr. Kurt Meyer.

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Juli 1910.)

Im folgenden soll über eine Reihe von Versuchen berichtet werden, die sich mit den unter der Einwirkung von Bandwurm- und Echinokokkensubstanz vom menschlichen und tierischen Organismus gebildeten komplementbindenden Antikörpern befassen und auch über die chemische Natur des Antigens bemerkenswerte Ergebnisse geliefert haben.

Ueber komplementbindende Antikörper im Serum von Bandwurmträgern.

Schon vor längerer Zeit suchte ich im Serum von Bandwurmträgern Antikörper nachzuweisen. Ich benutzte bei meinen ersten Versuchen¹⁾ als Antigen wässrige Extrakte, die durch Schütteln der fein zerriebenen Bandwürmer mit der 5-fachen Menge 0,5-proz. Karbol-Kochsalzlösung gewonnen waren. Die Versuche hatten ein negatives Ergebnis insofern, als die Extrakte in Mengen, die weit unter der eigenhemmenden Dosis lagen, mit normalem Serum Komplementbindung gaben und mit einigen Seren von Bandwurmträgern keine stärkere Reaktion zeigten.

Erst bei Verwendung alkoholischer Extrakte, die durch mehrtägiges Digerieren der zerkleinerten Bandwurmsubstanz mit der 10-fachen Menge 96-proz. Alkohols bei 37° gewonnen waren, gestaltete sich das Ergebnis anders. Mit 0,5 ccm des 10-fach mit Kochsalzlösung verdünnten Extrakts gaben die verschiedensten normalen und pathologischen Seren niemals Komplementbindung. Dies gilt auch für luetische Sera, bei denen wegen des Lipoidgehalts der Extrakte eine positive Reaktion erwartet werden konnte. Dagegen fanden sich, wie bereits an anderer Stelle²⁾ kurz mitgeteilt, unter 12 untersuchten Seren von Bandwurmträgern 4, die unter Komplementbindung mit dem Antigen reagierten, und zwar noch in sehr geringen

1) Zur Methodik sei bemerkt, daß jede Reaktionskomponente auf 0,5 ccm aufgefüllt, also mit einer Gesamtmenge von 2,5 ccm gearbeitet wurde. 0,5 ccm 5-proz. Hammelblut; doppelt lösende Hämolysinmenge; 0,5 ccm Meerschweinchenserum 1:10.

2) Kurt Meyer, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 28, p. 1316.

Mengen, in einem Falle bis zu 0,005 ccm. Um so mehr muß auffallen, daß die Mehrzahl der Sera auch nicht andeutungsweise eine Reaktion zeigte. In den klinischen Erscheinungen war eine Ursache für dieses verschiedene Verhalten der Sera nicht aufzufinden. Ob Unterschiede in der Menge der resorbierten Parasitenstoffe oder im Reaktionsvermögen des Organismus eine Rolle spielen, muß dahingestellt bleiben.

Bei nochmaliger Untersuchung wässriger Extrakte zeigte sich, daß auch mit ihnen bei Verwendung geringerer Extrakt- und Serummengen die Reaktion spezifisch ist. Die Reaktion der Extrakte mit normalem Serum ist wahrscheinlich durch eine eiweißartige Substanz bedingt. Beim Versetzen der Extrakte mit dem mehrfachen Volumen Alkohol schied sich ein flockiger Niederschlag ab, der selbst keinerlei Reaktion mit normalem oder Bandwurmserum zeigte. Die auf kleines Volumen gebrachte Flüssigkeit reagierte dagegen nunmehr nur mit Bandwurmserum; mit normalem Serum trat keine Reaktion ein.

Immunisierungsversuche mit Bandwurmsubstanz.

Durch intravenöse Injektion sowohl von wässrigen wie alkoholischen Extrakten ließen sich von Kaninchen stark wirksame Sera gewinnen. Das Serum eines mit wässrigen Extrakten behandelten Kaninchens gab z. B. noch in einer Menge von 0,001 ccm völlige Komplementablenkung.

Komplementbindende Antikörper im Serum von Echinokokkenkranken.

Der Nachweis komplementbindender Antikörper im Serum Echinokokkenkranker hat bereits ausgedehnte klinisch-diagnostische Anwendung gefunden. Wie vor kurzem mitgeteilt, habe ich selbst weniger günstige Erfahrungen mit der Reaktion gemacht. Außer den dort beschriebenen zwei Fällen, bei denen die Reaktion versagte, habe ich neuerdings wieder bei einem vereiterten Leberechinococcus die Reaktion negativ gefunden.

Als Antigen lassen sich sowohl Cystenflüssigkeit wie wässrige und alkoholische Extrakte aus fein zerriebener Cystenwand verwenden. Die Extrakte scheinen länger haltbar zu sein als die Cystenflüssigkeit, bei der ich eine Abschwächung auch im gefrorenen Zustande beobachtete, während die Extrakte, besonders die alkoholischen, bei mehrmonatlicher Aufbewahrung keine Abnahme ihrer Wirksamkeit zeigten.

Immunisierungsversuche mit Cystenflüssigkeit und Extrakten.

Immunisierungsversuche an Kaninchen sind bereits von Ghedini¹⁾, dann von Rossello²⁾, zuletzt von Graetz³⁾ unternommen worden. Sie alle berichten über die Bildung komplementbindender Antikörper. Nach Rossello sollen durch Injektion von Cysteninhalt und von Cystenwandextrakt verschiedene Antikörper auftreten, die nur mit dem homologen Antigen reagieren.

Mir selbst ist bei Immunisierung mit Cystenflüssigkeit eine einwandfreie Steigerung des normalen Antikörpergehaltes nicht gelungen; doch ist an der Möglichkeit einer solchen nach den Angaben in der Literatur nicht zu zweifeln. Bei Immunisierung mit wässrigem Extrakt aus Echinokokkenwand dagegen erzielte ich ein Serum, das bis 0,02 ccm mit Echinokokkenextrakt völlige Komplementbindung gab, während es mit Cystenflüssigkeit (0,3 ccm) nur in einer Menge von 0,1 ccm mit vollständiger Komplementbindung reagierte. Da die Cystenflüssigkeit gegenüber anderen Seren — wir kommen weiter unter noch darauf zu sprechen — mindestens die gleiche Reaktionsstärke zeigte wie der Extrakt, so scheinen die Eigenschaften dieses Serums die Angaben Rossellos über die wechselseitige Unabhängigkeit der Antikörper gegen Cystenflüssigkeit und gegen Wandextrakt zu bestätigen.

Ueber die Verwandtschaftsreaktion von Bandwurm- und Echinokokkenantigen und -antikörpern.

An anderer Stelle habe ich bereits mitgeteilt, daß die Sera von Bandwurmträgern, die mit Bandwurmextrakten Komplementbindung geben, in gleicher Weise mit Echinokokkenextrakt und Cystenflüssigkeit reagieren und daß ebenso das Serum eines Echinokokkenkranken mit Bandwurmextrakt Komplementbindung gibt. Ich habe dort auch erwähnt, daß sich auch quantitativ ein Unterschied in der Stärke der Reaktionen nicht erkennen läßt.

1) Ghedini, *Annali dell' istituto Maragliano*, Vol. 3, 1909, p. 131.

2) Rossello, *Presse méd.*, 1909, No. 63; zit. nach Putzer, *Centralblatt f. Bakt.*, Bd. 59, 1910, p. 77.

3) Graetz, *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 55, 1910, p. 234.

Auf die praktisch-diagnostische Bedeutung dieser Verwandtschaftsreaktion habe ich bereits hingewiesen. Es wäre von Interesse, zu untersuchen, ob die anderen Tānienarten sich serologisch ebenso verhalten und ob im System entfernter stehende Cestodenarten, etwa *Bothriocephalus latus*, wenigstens qualitativ gleich reagieren ¹⁾).

Auch im Tierversuch ließ sich die Verwandtschaftsreaktion nachweisen, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle I.

			Bandwurm- extrakt 1:10 0,5 ccm	Echinokokken- extrakt 1:5 0,5 ccm
Bandwurmmimmunserum	1:100	0,1 ccm	0	0
		0,05 "	i. H.	i. H.
		0,02 "	k. H.	k. H.
Echinokokkenimmunserum	1:10	0,2 "	0	0
		0,1 "	i. H.	i. H.
		0,05 "	k. H.	k. H.

0 = keine, f. k. H. = fast komplette, i. H. = inkomplette, k. H. = komplette Hämolyse.

Auch hier also nicht einmal ein quantitativer Unterschied. Versuche, die Antikörper durch Absorption mit dem homologen Antigen (Bandwurmsubstanz oder Echinokokkenwand) zu trennen, lieferten kein Ergebnis, weil Antigen in das Serum übergang, so daß dieses schon an sich komplementbindend wirkte.

Ueberraschend war das Ergebnis, als das Bandwurmmimmunserum statt mit Echinokokkenwandextrakt mit Cystenflüssigkeit, die mit menschlichem Echinokokken- und Bandwurmserum prompt reagiert hatte, als Antigen untersucht wurde.

1) Anmerkung bei der Korrektur. Ich hatte inzwischen Gelegenheit, das Serum eines Patienten mit *Bothriocephalus latus* zu untersuchen. Eine vergleichende Untersuchung dieses und eines Tānienserums mit Tānien- und *Bothriocephalus*extrakt ließ auch quantitativ keinerlei Unterschied erkennen. Ferner reagierten beide Sera auch in gleicher Weise mit Echinokokkenflüssigkeit.

Tabelle II.

		Echinokokken- extrakt 1:5 0,5 ccm	Cystenflüssigkeit 0,3 ccm
Bandwurmmimmunserum 1:10	0,5 ccm	0	k. H.
	0,2 „	0	„
	0,1 „	0	„

Hierbei unterschied es sich nicht von einem normalen Serum. Es besteht also ein einschneidender Unterschied zwischen den antigenen Eigenschaften des Wandextrakts und der Cystenflüssigkeit. Offenbar handelt es sich hier um dieselben Verhältnisse wie bei den erwähnten Befunden Rosellos. Man würde demnach zu unterscheiden haben zwischen den Antikörpern gegen die Leibessubstanz des Bandwurms und die Cystenwand des Echinococcus, die identisch sind und nur Gattungsspezifität zeigen, einerseits, und zwischen Antikörpern gegen die Cystenflüssigkeit, die streng artspezifisch sind, andererseits. Lügen die Verhältnisse so, so müßte man erwarten, daß auch die menschlichen Bandwurmträger nur Antikörper gegen Echinokokkenextrakt, nicht aber gegen Cystenflüssigkeit bilden. Das ist aber, wie wir gesehen haben, nicht der Fall: ihr Serum reagiert vielmehr mit der Cystenflüssigkeit ebenso stark wie mit den Extrakten. Der Antikörper gegen die Cystenflüssigkeit kann also ebenfalls nicht artspezifisch sein, sondern muß auch in einem Produkt des Bandwurms sein Antigen finden. Faßt man die Bedingungen der Antikörperbildung beim Bandwurmträger und beim Versuchstier näher ins Auge, so ergibt sich als wesentlicher Unterschied, daß dort das lebende Tier, hier tote Leibessubstanz den antigenen Reiz liefert. Man könnte annehmen, daß der lebende Bandwurm einen Körper produziert, der sogleich von der Umgebung aufgenommen wird, in der Leibessubstanz aber nicht oder nur in geringer Menge enthalten ist. Der lebende Echinococcus würde die gleiche Substanz bilden, sie aber in den Cystensack hinein sezernieren, so daß sie aus diesem in größerer Menge gewonnen werden kann. Diese Hypothese scheint mir die Versuchsergebnisse am einfachsten zu erklären, bedarf aber der experimentellen Stütze.

Die chemische Natur des Bandwurmantigens.

Ein bemerkenswertes Ergebnis der beschriebenen Versuche bedeutet die Wirksamkeit der alkoholischen Extrakte als komplementbindendes Antigen. Im Gegensatz zu den Extrakten aus luetischen Organen zeigen sie dabei strenge Antigenspezifität. Da bisher die Spezifität als Eigenschaft der Eiweißkörper angesehen wird, andererseits die Alkohollöslichkeit einer Substanz gegen ihre Eiweißnatur spricht, so erschien eine nähere Untersuchung dieser Frage angezeigt.

Zunächst war festzustellen, ob es sich um eine echte Alkohollöslichkeit des Antigens handelte. Bei der Darstellung der Extrakte fand eine nicht unerhebliche Verdünnung des Alkohols durch das in der Bandwurmsubstanz enthaltene Wasser statt; es war möglich, daß hierdurch der Uebergang eiweißartiger Substanzen in die Extrakte ermöglicht wurde. Sodann ist es bekannt, daß eiweißartige Stoffe, Fermente u. dgl. von Lipoiden absorbiert werden und mit ihnen zusammen in Fettlösungsmittel übergehen. Es sei hier nur an die Beobachtungen von Reiss¹⁾ über die Löslichkeit von Fermenten in Lecithin-Chloroform und von Michaelis und Rona²⁾ über den Uebergang von Albumosen und Fermenten in Lecithin- und Mastix-Chloroform erinnert. Diese Autoren haben jedoch auch gefunden, daß die Eiweißstoffe gerade in Chloroform besonders leicht übertreten, während dies bei anderen Lösungsmitteln, wie Aether und Benzol, nicht oder nur in geringem Maße der Fall ist. Um die Lipide frei von eiweißartigen Beimengungen zu erhalten, war es daher geboten, gerade diese Lösungsmittel zur Reinigung zu verwenden. Es wurde daher folgender Weg eingeschlagen.

Die alkoholischen Extrakte aus zwei Bandwurmsera wurden im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde zunächst mit wasserfreiem Aether, dann mit absolutem Alkohol extrahiert. Der Aetherextrakt wurde abgedampft; es blieb ein Rückstand von 0,94 g. Dieser wurde nochmals in absolutem Aether gelöst, wobei 0,02 g zurückblieben, die nicht weiter untersucht wurden. Die ätherische Lösung wurde wiederum eingedampft und der Rückstand mit Benzol behandelt, wobei klare Lösung

1) Reiss, Berl. klin. Wochenschr., 1904, No. 15, p. 1169.

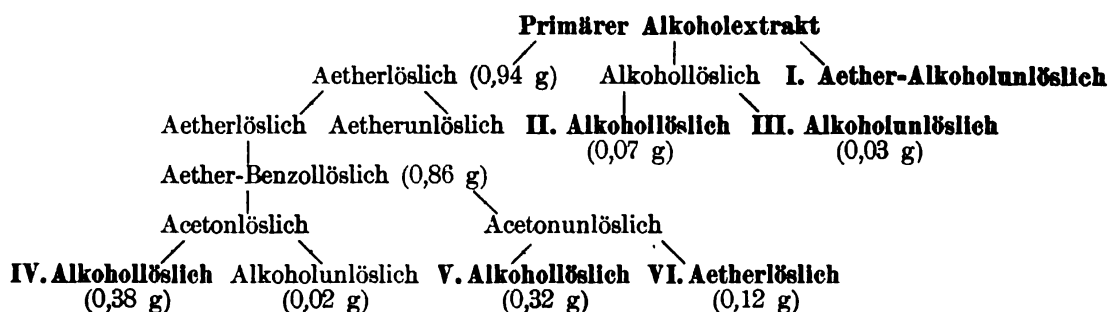
2) Michaelis und Rona, Biochem. Zeitschr., Bd. 4, 1907, p. 11.

erfolgte. Die Benzollösung wurde über Paraffin eingedampft. Der Benzol-extrakt wurde mit wasserfreiem Aceton extrahiert, wobei er teilweise in Lösung ging. Die Acetonlösung wurde abgedampft. Der Rückstand (0,40 g) wurde in Alkohol gelöst, wobei weiße Kristalldrüsen, wahrscheinlich Palmitin und Stearin, in einer Menge von 0,02 g zurückblieben. Der aceton-unlösliche Teil des Benzolextrakts wurde mit Alkohol behandelt, die alkoholische Lösung verdampft. Rückstand 0,32 g. Der alkoholunlösliche Rückstand wurde mit Aether aufgenommen, der Aether verdampft. Rückstand 0,12 g.

Der in Aether unlösliche, in Alkohol lösliche Teil des primären Alkohol-extrakts wurde zur Trockne verdampft und wieder mit Alkohol aufgenommen. Hierbei gingen 0,07 g in Lösung, während 0,03 g ungelöst blieben. Dieser Rückstand war auch in Chloroform, Essigester, Petroläther und Aether- und Tetrachlorkohlenstoff unlöslich.

Die Gewichtsanzahl des primär alkoholunlöslichen Rückstandes ging leider verloren.

Das nachfolgende Schema wird die Uebersicht über die einzelnen Fraktionen erleichtern. Die näher untersuchten Fraktionen sind fett gedruckt und mit Zahlen bezeichnet.



Wenn wir uns nun mit der chemischen Natur der einzelnen Fraktionen näher beschäftigen, so sei vorweg bemerkt, daß von einer Reindarstellung der Substanzen keine Rede sein kann. Bei der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Materials war aber eine umständliche Reinigung einstweilen nicht möglich; zu einer ungefähren Charakterisierung reichten die Darstellungsmethode und die noch anzuführenden Proben jedoch aus.

In den Aetherextrakt ging die Hauptmenge der Lipide. Ungelöst dagegen blieben, alkohollöslich waren hauptsächlich Seifen, daneben vielleicht Zersetzungsprodukte höherer Lipide (vgl. Desoleolecithin). Die äther- und alkoholunlöslichen Stoffe wurden vorwiegend wohl von Eiweißkörpern gebildet. Die ätherlöslichen Lipide wurden fraktioniert durch die Acetonbehandlung. In das Aceton hinein gingen in erster Linie die Fette, während die eigentlichen Lipide ungelöst blieben. Bei der Behandlung des Rückstandes mit Alkohol wurden die Lecithine gelöst, während andere Lipide

(z. B. solche vom Charakter des Kephalins und Cuorins), in Alkohol unlöslich, erst durch Aether gelöst wurden.

Die chemische Untersuchung mußte sich bei dem geringen Material auf wenige qualitative Proben beschränken. Die Hauptfraktionen wurden mit Natriumperoxyd-Natriumkarbonatgemisch verascht. Die Asche von Fraktion II gab mit molybdänsaurem Ammoniak schwache Phosphorsäurereaktion (Gelbfärbung), mit Bariumchlorid keine Schwefelsäurereaktion. Auch bei Fraktion IV war die Phosphorsäurereaktion schwach, dagegen gab sie starke Schwefelsäurereaktion. Beim Kochen der Substanz mit alkalischer Bleilösung trat Braunfärbung ein, jedoch anscheinend geringer, als der Schwefelsäurereaktion der Asche entsprach. Sie enthielt also Phosphatide nur in Spuren, dagegen reichlich Sulfatide. Die Asche von Fraktion V gab starke Phosphorsäurereaktion (kristallinischer Niederschlag), dagegen keine Schwefelsäurereaktion. Die Asche von Fraktion VI gab schwache Phosphorsäurereaktion, keine Schwefelsäurereaktion. Die Hauptmenge der Phosphatide findet sich demnach in Fraktion V, die auch nach der Art der Darstellung vorwiegend aus Lecithinen bestehen muß. Ein interessanter Nebenfund ist der hohe Schwefelgehalt der Fraktion V.

Keine von den Fraktionen zeigte auch nur spurweise Eiweißreaktionen (Biuretreaktion, Millonsche und Molischsche Reaktion). Auch der fehlende Schwefelgehalt der Fraktionen II, IV und V beweist die Abwesenheit von Eiweiß.

Es wurde nunmehr die Wirksamkeit der einzelnen Fraktionen im Komplementbindungsversuch bestimmt. Als Antikörper wurde stets 0,001 ccm Bandwurmmimmunserum verwendet.

Die Lipide wurden in der 50-fachen Menge Alkohol gelöst und von dieser Stammlösung mit Kochsalzlösung Verdünnungen hergestellt. Die in Aether und Alkohol unlöslichen Fraktionen I und III wurden direkt in Kochsalzlösung emulsiert. Die alkoholunlösliche Fraktion VI wurde, in Aether gelöst, mit Kochsalzlösung unter Umschütteln verdünnt, der Aether verdampft. Vor dem eigentlichen Versuch wurde das Eigenhemmungsvermögen jeder Fraktion geprüft.

Tabelle III.

Lösung 1 : 500	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion III	Fraktion IV	Fraktion V	Fraktion VI
1,0 ccm	k. H.	k. H.	k. H.	0	k. H.	0
0,5 "	"	"	"	0	"	i. H.
0,2 "	"	"	"	f. k. H.	"	"

Starke Eigenhemmung zeigte also nur Fraktion IV, deren Aufschwemmung in Wasser milchartig aussah. Geringe Hemmung übte auch Fraktion VI aus.

Die folgende Tabelle zeigt nun die Wirksamkeit der einzelnen Fraktionen. Des Vergleichs halber ist auch ein Versuch mit dem ursprünglichen Alkoholextrakt beigelegt.

Tabelle IV.

Lösung 1 : 500	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion III	Fraktion IV	Fraktion V	Fraktion VI	Ursprüngl. Extrakt
0,2 ccm	f. k. H.	0	k. H.	Spur	0	k. H.	0
0,1 „	k. H.	Spur	„	i. H.	0	„	0
0,05 „	„	i. H.	„	f. k. H.	0	„	i. H.
0,02 „	„	k. H.	„	k. H.	0	„	k. H.
0,01 „	„	„	„	„	i. H.	„	„

Die Tabelle zeigt, daß die Hauptwirksamkeit der Lecithinfraktion zukommt. Die nächst wirksame Fraktion reagiert etwa zehnmal schwächer, die anderen noch weniger oder gar nicht. Bei der unzureichenden Reinigung der einzelnen Fraktionen kann man die schwache Wirksamkeit der anderen Fraktionen unbedenklich auf Beimengungen von der Fraktion III beziehen.

Vergleichen wir die Wirksamkeit der Lecithinfraktion mit der des ursprünglichen Extraktes, so ergibt sich ein gewisser Verlust an wirksamer Substanz. Der Trockengehalt des Extraktes betrug etwa 0,5 Proz. Er kam also in einer Verdünnung von etwa 1 : 2000 zur Verwendung. In dieser Verdünnung war er fünfmal schwächer wirksam als die Lecithinfraktion in einer Verdünnung 1 : 500. Extraktückstand und Lecithinfraktion würden also ziemlich gleiche Wirksamkeit besitzen. Da aber der Extraktückstand nur etwa zu einem Drittel aus Lecithin besteht, so findet sich tatsächlich in diesem nur ein Drittel der ursprünglichen Wirksamkeit des Extraktes wieder. Der Rest wurde entweder bei der Darstellung zerstört, was bei der Labilität der Lipide nicht auffällig wäre, oder es sind in dem Extrakt noch aktivierende Substanzen enthalten, deren Wirkung bei dem isolierten Lipoid fortfällt.

Es fragt sich nun weiter, ob die Lecithinfraktion als solche als das komplementbindende Antigen anzusehen ist oder ob ihre Wirksamkeit auf die Beimengung einer anderen Substanz, etwa eines Eiweißkörpers, zurückzuführen ist.

Zunächst ist schon nach dem Darstellungsverfahren eine Beimengung von Eiweißkörpern recht unwahrscheinlich. Nach den spärlichen bisher vorliegenden Erfahrungen scheinen in wasserfreiem Aether und besonders in Benzol Eiweißkörper mit den Lipoiden nicht hineinzugehen. Sodann spricht auch das Fehlen aller Eiweißreaktionen gegen eine über Spuren hinausgehende Beimengung von Eiweißkörpern. Wollte man auf diese Spuren die Wirksamkeit der Fraktion zurückführen, so würde man mit den sonstigen Erfahrungen über die Empfindlichkeit der Immunitätsreaktionen in Widerspruch geraten. Schon in der oben wiedergegebenen Tabelle sehen wir noch in einer Menge von 0,02 ccm einer Verdünnung 1:500 völlige Komplementbindung eintreten. Die Empfindlichkeit ließ sich aber noch weiter steigern, und zwar zunächst durch Steigerung der Antikörpermengung, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle V.

Lecithin 1:5000	Bandwurmserum		
	0,001 ccm	0,005 ccm	0,05 ccm
0,5 ccm	0	0	0
0,2 "	0	0	0
0,1 "	f. k. H.	0	0
0,05 "	k. H.	i. H.	0
0,02 "		k. H.	0
0,01 "			i. H.
0,005 "			k. H.

Die Empfindlichkeit ist auf diese Weise auf das 10-fache gestiegen. Sie ließ sich aber noch weiter erhöhen durch Zusatz von Alkohol, der auch sonst die Wirksamkeit der Bauchwurmextrakte steigert. Die Lecithinaufschwemmung wurde auf einen Alkoholgehalt von 20 Proz. gebracht. Die Erhöhung der Wirksamkeit zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle VI.

0,05 ccm Serum +	Lecithin 1:50 000	Lecithin 1:50 000 + 10 Proz. Alkohol
0,2 ccm	0	0
0,1 "	i. H.	0
0,05 "	k. H.	i. H.
0,02 "	k. H.	k. H.

Die Empfindlichkeit ist nunmehr so groß geworden, daß bei einer Konzentration des Lecithins von 1:2500 000, auf

das ganze System berechnet, völlige Komplementbindung eintritt. Es ist klar, daß durch Herabsetzung der Komplementmenge die Empfindlichkeit noch weiter gesteigert werden könnte. Wollte man nun die Reaktion nicht auf das Lecithin als solches, sondern auf beigemengte Spuren von Eiweißkörpern beziehen, so käme man zu ganz ohne Analogon dastehenden Empfindlichkeitsarten. Ob die ganze Fraktion als komplementbindendes Antigen fungiert oder nur ein Teil von ihr, läßt sich vorläufig nicht sagen.

Immerhin sehe ich einen bindenden Beweis für die Lipoidnatur des Antigens hiermit noch nicht geliefert. Ich war daher bemüht, durch weitere Versuche meine Auffassung zu stützen. Zunächst wurde untersucht, ob sich durch Aetherextraktion die Wirksamkeit der Extrakte aufheben und in den Aetherextrakt überführen läßt.

Der wäßrige Extrakt wurde mit der gleichen Menge destillierten Wassers verdünnt und 6 Stunden im Gadamerischen Apparat mit Aether extrahiert. Im Vakuum wurde er auf das ursprüngliche Volumen eingeeengt. Der Aetherextrakt wurde zur Trockne verdampft und mit einer dem wäßrigen Extrakt entsprechenden Menge Alkohol aufgenommen.

Tabelle VII.

	Wäßriger Extrakt	Wäßriger Extrakt extrahiert	Aetherextrakt
1,0 ccm	0	k. H.	0
0,5 "	0	"	0
0,2 "	0	"	0
0,1 "	i. H.	"	i. H.
0,05 "	f. k. H.	"	f. k. H.

Der wäßrige Extrakt war also durch die Aetherextraktion völlig seiner Wirksamkeit beraubt worden; der Aetherextrakt wies dagegen das volle Komplementbindungsvermögen des wäßrigen Extraktes auf. Die wirksame Substanz war also quantitativ in den Aether übergegangen. Diese Tatsache spricht ebenfalls mit großer Wahrscheinlichkeit für ihre Lipoidnatur. Ein partieller Uebergang in den Aether könnte auf Adsorption an die Lipoide zurückgeführt werden. Da aber bei einem Adsorptionsvorgang immer ein Teil des adsorbierten Körpers in der Lösung bleibt, während in unserem

Falle der Uebergang quantitativ verlief, so läßt sich auf eine echte Aetherlöslichkeit des Antigens schließen.

Ein weiterer Aufschluß über die Natur des komplementbindenden Antigens konnte von seinem Verhalten gegenüber der Einwirkung von Fermenten erwartet werden.

Sowohl wäßriger wie alkoholischer Bandwurmextrakt wurden einerseits mit dem gleichen Volumen einer 1-proz. Lösung von Trypsin Grübler in Kochsalzlösung, andererseits mit dem halben Volumen einer 1-proz. Lösung von Pepsin Grübler in n/5 Salzsäure versetzt und nach Zymolzusatz 24 Stunden bei 37° gehalten. Danach wurden die Pepsingemische durch Zusatz eines entsprechenden Volumens n/5 NaOH-Lösung neutralisiert. Zur Kontrolle wurden Versuche mit gekochten Fermentlösungen angesetzt. In der Tabelle sind die Zahlen auf die Ursprungsvolumina bezogen.

Tabelle VIII.

	Wäßriger Extrakt	Wäßriger Extr. + Trypsin	Trypsin-kontrolle	Wäßriger Extr. + Pepsin	Pepsin-kontrolle
0,2 ccm	0	i. H.	i. H.	0	0
0,1 „	i. H.	k. H.	k. H.	f. k. H.	f. k. H.
0,05 „	f. k. H.	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.
	Alkoholisch. Extrakt	Alkohol. Extr. + Trypsin	Trypsin-kontrolle	Alkohol. Extr. + Pepsin	Pepsin-kontrolle
0,2 ccm	0	0	0	0	0
0,1 „	i. H.	i. H.	i. H.	f. k. H.	f. k. H.
0,05 „	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.	k. H.

Aus der Tabelle ergibt sich, daß eine Zerstörung oder nur Abschwächung des Antigens durch die fermentative Tätigkeit des Trypsins und Pepsins nicht stattgefunden hatte. Findet sich eine gewisse Abschwächung bei der Trypsineinwirkung in der ersten, bei der Pepsinbehandlung in der zweiten Reihe, so zeigen die Kontrollen, daß diese nicht auf die Wirkung der Fermente zu beziehen ist. Mit großer Wahrscheinlichkeit sprechen auch diese Versuche gegen die Eiweißnatur des Antigens. Dem Einwand, daß die Gegenwart der Lipide die Verdauung etwa vorhandener Eiweißkörper verhindern könne, wurde in Versuchen begegnet, in denen Kaseinlösung unter Zusatz der Extrakte der Verdauung durch die Fermentlösungen ausgesetzt wurde. Eine Hemmung der Verdauung war, wie bei der geringen Menge der Lipide zu erwarten, nicht nachweisbar.

Die Gegenprobe zu diesem Ergebnis lieferten Versuche über die Einwirkung von Ricinuslipase, die mir von den Ver-

einigten chemischen Werken, Charlottenburg in liebenswürdiger Weise überlassen worden war, auf die Wirksamkeit der Extrakte. Die Extrakte wurden wieder mit dem gleichen Volumen einer 2-proz. Aufschwemmung der Lipase in Kochsalzlösung versetzt und 6 Stunden bei 37° gehalten. Hinterher wurde filtriert. Die Wirkung der Lipase zeigte sich an der Aufhellung der vorher opalisierenden Extrakte. Auch hier waren Kontrollversuche mit gekochtem Ferment angesetzt worden.

Tabelle IX.

	Wäßriger Extrakt	Wäßriger Extr. + Lipase	Kontrolle	Alkohol. Extrakt	Alkohol. Extr. + Lipase	Kontrolle
0,5 ccm	0	k. H.	0	0	k. H.	0
0,2 „	0	„	i. H.	0	„	i. H.
0,1 „	i. H.	„	k. H.	i. H.	„	k. H.
0,05 „	k. H.	„	k. H.	k. H.	„	k. H.

Die Versuche ließen eine ganz unzweideutige Wirkung der Lipase auf das Antigen erkennen, es war vollkommen zerstört worden. Die geringe Abschwächung der Extrakte durch das gekochte Ferment ist vielleicht auf einen Uebergang des Antigens in die fettlösliche Lipase oder auf nicht zerstörte Reste des ziemlich thermostabilen Ferments zurückzuführen.

Kontrollversuche zeigten, daß die Lipase nicht etwa an sich oder durch Abspaltung wirksamer Produkte aus den Lipoiden hämolytisch wirkte und eine vorhandene Komplementbindung verdeckte.

Fassen wir die über die chemische Natur des komplementbindenden Antigens gewonnenen Ergebnisse zusammen, so erscheint sein Eiweißcharakter ausgeschlossen wegen des Fehlens aller Eiweißreaktionen und wegen seiner Resistenz gegen Verdauungsfermente. Dagegen folgt aus seinem Verhalten gegenüber den Lösungsmitteln, daß es zu den Lipoiden und zwar zur Gruppe der Lecithine gehört. Aus seiner Zerstörbarkeit durch Lipase ergibt sich seine Lipoidnatur mit Sicherheit.

Kurz berührt sei noch die Frage, ob das Antigen etwa zu den „Lipoid-Eiweißkörpern“ gehört, wie vielleicht eingewendet werden könnte. Die Bedeutung, die man diesen gegenwärtig zuschreibt, steht in umgekehrtem Verhältnis zu unseren Kennt-

nissen von ihren Eigenschaften. Etwas näher bekannt sind die Lecithalbumine wie das Vitellin. Sie verhalten sich in ihren Eigenschaften wie Eiweißkörper, nur daß aus ihnen Lipide abgespalten werden können. Sie geben die typischen Eiweißreaktionen. Sodann ist bekannt, daß die Lipide mit den Eiweißkörpern Adsorptionsverbindungen wechselnder Zusammensetzung bilden, die beim Ueberwiegen des Lipids dessen Lösungsverhältnisse zeigen. Solche physikalische Komplexe als identisch anzusehen oder auch nur zusammenzustellen mit chemischen, wenn auch lockeren Verbindungen, dürfte nicht zweckmäßig sein. Eine nur einigermaßen charakterisierte chemische Lipid-Eiweißverbindung, die sich in ihren Lösungsverhältnissen und Reaktionen wie ein Lipid verhält, dürfte bis jetzt nicht bekannt sein. Die Behauptung von E. P. Pick und Schwarz¹⁾, daß Eiweißkörper durch ihre Lösungsfähigkeit in Lipiden derart ihren Charakter verändern, daß sie sich dem Nachweis mit den üblichen Reaktionen entziehen, erscheint durch Tatsachen nicht genügend gestützt. Die von ihnen angeführte Resistenz des Cobralecithids gegen Pepsinverdauung und seine Nichtneutralisierbarkeit durch Antivenin ist ja durch den Nachweis, daß das Cobragift an der Wirksamkeit des Lecithids nicht beteiligt ist [v. Dungern und Coca²⁾] in ganz anderem Sinne aufgeklärt.

Eiweiß-Lipidverbindungen anzunehmen, obgleich keinerlei Anhaltspunkte für den Eiweißgehalt vorhanden sind, erscheint mir eine unnötige Komplizierung. Ich möchte also daran festhalten, daß das komplementbindende Antigen der Bandwurmextrakte ein echtes Lipoid vom Charakter des Lecithins ist, wobei ich mich außer auf seine Lösungsverhältnisse auf seine Zerstörbarkeit durch Lipase stütze. Unter Antigen wird hier die Substanz verstanden, die mit dem spezifischen Antikörper reagiert. Ob sie entsprechend der Ehrlichschen Theorie im tierischen Organismus auch Antikörperbildung hervorruft, bedarf noch der Untersuchung.

1) E. P. Pick und O. Schwarz, *Biochemische Zeitschr.*, Bd. 15, 1909, p. 457.

2) v. Dungern und Coca, *Münch. med. Wochenschr.*, 1907, No. 79, p. 2317.

Wir sehen also die Artspezifität oder in unserem Falle vielmehr die Gattungsspezifität, eine Eigenschaft, die bisher allgemein den Eiweißkörpern zugeschrieben wurde, an ein Lipoid geknüpft. Denn mit anderen Antiseren reagieren die Extrakte nicht, ebensowenig wie das Bandwurmserum mit käuflichem Lecithin.

Es fragt sich nun, ob sonst noch Beobachtungen vorliegen, die für eine antigene Funktion von Lipoiden sprechen. In der Tat sind hier eine ganze Reihe von Angaben zu nennen. So fanden Nicolle¹⁾ und E. P. Pick²⁾ die agglutinable Substanz in Alkohol löslich. Nach Levaditi und Mutermilch³⁾ soll das Choleraantigen in 85-proz. Alkohol löslich sein. Kleinschmidt⁴⁾ beobachtete bei Leprösen Antikörperbildung gegen Nastin und Chaulmoograöl. Bogomolez⁵⁾ erzeugte Anaphylaxie durch Alkohol-Aetherextrakte aus Eidotter. Auch die Versuche von Bang und Forssman⁶⁾ sowie Dautwitz und Landsteiner⁷⁾ über das Bindungsvermögen von Blutkörperchenlipoiden sind hier zu nennen. Zum großen Teil aber verzichteten diese Versuche auf eine Reindarstellung der Lipode, so daß ihnen kaum strenge Beweiskraft zukommt, oder die Autoren sind, mit Ausnahme von Bang und Forssman, geneigt, den Lipoiden nur eine Nebenrolle zuzuweisen.

Dagegen glaube ich besonders durch die Lipaseversuche die Lipoidnatur des Antigens mit Sicherheit nachgewiesen zu haben, soweit dies überhaupt ohne synthetische Darstellung der fraglichen Substanz möglich ist. Naturgemäß schließt sich hier die Frage an, und ich habe Versuche in dieser Richtung begonnen, ob auch andere Antigene lipoiden und nicht Eiweißcharakter haben, wie manche

1) Nicolle, *Annal. Past.*, Vol. 12, 1898, p. 161.

2) E. P. Pick, *Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol.*, Bd. 1, 1901.

3) Levaditi und Mutermilch, *Compt. rend. d. l. Soc. d. Biol.*, T. 64 u. 65, 1908.

4) Kleinschmidt, *Berl. klin. Wochenschr.*, 1910, No. 20, p. 57.

5) Bogomolez, *Diese Zeitschr.*, 1910, Bd. 5, p. 121 u. Bd. 6, p. 332.

6) Bang und Forssman, *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, Bd. 8, 1906, p. 238.

7) Dautwitz u. Landsteiner, *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, Bd. 9, 1907, p. 431.

Angaben der Literatur über Resistenz des Antigens gegen Trypsinverdauung [Obermayer und Pick¹⁾, Fleischmann²⁾] und über sein besonderes Verhalten im Stoffwechsel [U. Friedemann und Isaac³⁾] vermuten lassen könnten.

Zusammenfassung.

Das Serum von Bandwurmträgern gibt in einer Reihe von Fällen mit alkoholischen und wäßrigen Bandwurmextrakten Komplementbindung. Die gleichen komplementbindenden Antikörper lassen sich durch Immunisierung von Kaninchen mit Bandwurmextrakten erzeugen.

Bei Echinokokkenkranken fällt die Komplementbindungsreaktion nicht selten negativ aus. Auch durch Immunisierung mit Echinokokkenextrakten lassen sich bei Kaninchen Antikörper erzeugen. Diese Extrakte scheinen im Gegensatz zu denen menschlicher Echinokokkensera mit Cystenflüssigkeit nicht oder nur schwach zu reagieren.

Die komplementbindenden Antikörper sind nicht art-, sondern gattungsspezifisch. Bandwurmserum reagiert mit Echinokokkenextrakt, und Echinokokkenserum mit Bandwurmextrakt. Bothriocephalusserum verhält sich wie Tänienserum.

Menschliches Bandwurmserum enthält im Gegensatz zum Bandwurmimmunserum des Kaninchens auch Antikörper gegen Cystenflüssigkeit. Diese sind wahrscheinlich gegen ein Antigen gerichtet, das sowohl vom lebenden Bandwurm wie Echinococcus gebildet wird, in den Extrakten aber nicht enthalten ist.

Die wirksame antigene Substanz der Bandwurmextrakte, an die die Gattungsspezifität geknüpft ist, ist kein Eiweißkörper, sondern ein lecithinähnliches Lipoid. Sie gibt keine Eiweißreaktionen und wird von Pepsin und Trypsin nicht angegriffen. Dagegen ist sie in Alkohol, Aether und Benzol löslich, in Aceton unlöslich und wird durch Lipase zerstört.

1) Obermayer und E. P. Pick, Wien. klin. Wochenschr., 1904, No. 10, p. 265.

2) Fleischmann, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 59, 1906, p. 515.

3) U. Friedemann und Isaac, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap., Bd. 3, 1906, p. 709.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin;
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Im-
munitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof.
Dr. E. Friedberger).]

Ueber Anaphylaxie.

IX. Mitteilung.

Das Verhalten des Anaphylatoxins gegenüber einigen physi- kalischen und chemischen Einflüssen.

Von Prof. Dr. **Ernst Friedberger** und Dr. **Ernst Jerusalem** (Wien).

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Juli 1910.)

Durch die von Friedberger begründete Auffassung der Anaphylaxie als eines völligen Analogons in vivo zu den Antigen-Antikörperreaktionen in vitro und durch die Möglichkeit der Darstellung des Anaphylaxiegiftes im Reagenzglas dürfte das Wesen der Anaphylaxie nach vielen Richtungen hin wesentlich geklärt sein. Es ist Friedberger bekanntlich zum ersten Mal einwandsfrei gelungen, in vitro durch Einwirkung von Komplement auf Präzipitate, also durch die Komponenten, die nachweislich bei der Anaphylaxie beteiligt sind, ein Gift zu erzeugen¹⁾, das, Meerschweinchen intravenös injiziert, alle Symptome der typischen Anaphylaxie und dementsprechend auch den für Anaphylaxie charakteristischen anatomischen Befund in so vollkommener Weise hervorruft, daß eine Identifizierung dieses Giftes mit demjenigen, das die anaphylaktischen Erscheinungen bei der sog. aktiven und passiven Anaphylaxie erzeugt, als eine notwendige Konsequenz erscheint. Diese Auffassung ist, wie besonders aus den Verhandlungen auf dem diesjährigen Mikrobiologen-Kongreß hervorgeht, im wesentlichen anerkannt und wird nur von wenigen Autoren bestritten.

Friedberger hat bereits in seiner IV. Mitteilung einiges über die Natur des Giftes mitgeteilt. Nachdem Friedberger und Vallardi (VIII. Mitteilung) die optimalen Bedingungen für die Giftbildung ermittelt hatten, war die Voraussetzung gegeben, um nähere Untersuchungen über die physikalischen

1) Neuerdings auch aus ambozeptorbeladenen Bakterien (diese Zeitschrift, VIII. Mitteilung; Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32).

und chemischen Eigenschaften des Anaphylatoxins anzustellen. Ueber unsere Versuche in dieser Richtung soll im folgenden berichtet werden.

Die Herstellung des Giftes erfolgte immer nach derselben, bereits in der IV. Arbeit von Friedberger geschilderten Methode einheitlich in allen unseren Versuchen nach folgendem Schema.

Bereitung der Antisera: Kaninchen erhalten pro Kilogramm Körpergewicht 1 ccm Hammelserum intravenös injiziert. Nach 5 Tagen wird die Injektion wiederholt und nach weiteren 7 bis 8 Tagen dem Tier eine Blutprobe aus der Ohrvene entnommen. Wenn das Serum Hammeleiweiß bis mindestens 1:10000 in wenigen Minuten bei Zimmertemperatur präzipitiert, wird das Tier entblutet, das Serum abgeschieden, 10 Minuten bei 56° inaktiviert.

Giftdarstellung: Mengen von je 2 ccm des präzipitierenden Serums werden mit je 1 ccm in gleicher Weise inaktivierten Hammelserums versetzt. Die Proben kommen auf 1 Stunde in den Brutschrank und werden dann noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen gelassen. Am nächsten Tage werden die Präzipitate von der darüberstehenden Flüssigkeit abzentrifugiert, einmal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit je 3 ccm frischem Meerschweinchenkomplement (Tiere bis 400 g) versetzt. Dann wird wieder 1 Stunde bei 37° und weitere 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, zentrifugiert, der aus allen Röhrchen vereinigte Abguß wird auf seine Giftigkeit an Meerschweinchen von 200 g bei intravenöser Einspritzung geprüft und, wenn sich das Gift als wirksam erweist, wird es weiter verwendet. Die Präzipitate wurden in der Regel noch einmal mit Komplement versetzt und wie oben weiter behandelt. Die so erhaltene Giftportion war ebenso stark, vielfach stärker wirksam als die erste.

I.

Eine *conditio sine qua non* für alle weiteren Versuche war der Besitz einer größeren Menge eines starken, dabei in seiner Wirksamkeit unveränderlichen und gut konservierbaren Giftes.

Da es uns schon bekannt war, daß Anaphylatoxin sich bei Zimmertemperatur schlecht hält und auch im Eisschrank seine Wirksamkeit verhältnismäßig rasch einbüßt, schien uns zuerst die Erledigung der Frage notwendig zu sein, ob es gelingt, Anaphylatoxin einzuengen und in getrocknetem Zustand ohne Verlust an Wirksamkeit aufzubewahren.

Wir benutzten zu den ersten Versuchen eine uns von Herrn Dr. Vallardi gütigst überlassene größere Anaphylatoxinmenge. Dies Gift tötete Meerschweinchen von 200 g in einer Dosis von 3 ccm binnen 5 Minuten unter typischen Erscheinungen.

6 ccm davon wurden im Vakuum über Schwefelsäure ohne weitere Kautelen eingeengt (Dauer 4 Stunden). Der Rückstand wurde in 3 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und einem Meerschweinchen von 200 g intravenös injiziert. Das Tier zeigte sofort nach der Injektion Zittern, Dyspnoe, blieb, auf den Rücken gelegt, minutenlang so liegen, erholte sich jedoch binnen einer halben Stunde vollständig.

Aus diesem Versuch ging hervor, daß das Eintrocknen und Wiederauflösen das Anaphylatoxin zwar nicht zerstört, aber unter den vorliegenden Bedingungen schädigt.

Da zu hoffen war, daß das Resultat sich verbessern würde, wenn das Eintrocknen mit größerer Geschwindigkeit erfolgte, wurde der Versuch in folgender Variation wiederholt:

Der Rest desselben Giftes wurde in Portionen zu je 3 ccm in Petrischalen verteilt und im Faustschen Trocknungsapparate bei 37—40° getrocknet, was höchstens 2 Stunden in Anspruch nahm. Die getrockneten Proben wurden in einem Exsikkator über Schwefelsäure im Dunkeln aufbewahrt.

Am 14. Juni (14 Tage nach der Trocknung) wurde der Inhalt einer Petrischale in 3 ccm destilliertem Wasser aufgenommen (fast restlose Lösung) und einem Meerschweinchen von 220 g intravenös injiziert.

11⁸ Injektion. Sofort heftige Krämpfe, Dyspnoe, hierauf folgt Seitenlage, Lähmung der hinteren Extremitäten.

11¹² Tier vollkommen gelähmt.

11¹⁵ Tier noch immer in Seitenlage, Reflexe schwach.

11³⁰ Tier sitzt wieder und reagiert gut auf Reize; hintere Extremitäten paretisch.

11³⁵ gleicher Befund.

1^o gleicher Befund.

Tier erholt sich schließlich wieder.

Da das verwendete Meerschweinchen schwerer war als das zur Prüfung des frischen Giftes verwendete, ging aus diesem Versuch hervor, daß eine Schwächung des Giftes kaum stattgefunden hatte. Noch deutlicher zeigt dies eine Wiederholung des Versuches mit demselben Gift am 15. Juni, wo abermals der Inhalt einer Petrischale in 3 ccm destilliertem Wasser einem Meerschweinchen von 200 g intravenös injiziert wurde.

11⁵⁰ Injektion. Sofort anhaltende typische Sprünge.

11⁵² Tier fällt auf die Seite, Reflexe erloschen.

11⁵⁴ vereinzelte agonale Atemzüge.

12⁰ Reflexe kehren wieder, Tier versucht aufzustehen, atmet sehr schwer.

12¹¹ Tier liegt wieder auf der Seite, Reflexe gering.

1⁰ Tier tot.

Es ergibt sich hieraus, daß es gelingt, Anaphylatoxin in der angegebenen Weise zu trocknen und lange zu konservieren. Der Versuch wurde in der Folge immer wieder aufs neue mit dem gleichen Resultat wiederholt, so daß diese Methode zur Konservierung des Anaphylatoxins empfohlen werden kann.

II.

War somit der Nachweis erbracht, daß das Anaphylatoxin sich in dieser Beziehung den übrigen Toxinen vollkommen analog verhält, so war zu erwarten, daß es auch in seiner Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen diesen Körpern gleichen würde. Friedberger hat seinerzeit schon nachgewiesen, daß das Anaphylatoxin feucht durch Erhitzen auf 65° völlig zerstört wird. Hingegen stand die Beantwortung der Frage noch aus, ob das Anaphylatoxin in getrocknetem Zustand Erhitzung auf höhere Temperaturen verträgt, wie das bei Fermenten, Bakterientoxin und auch beim Komplement der Fall ist (Friedberger, Noguchi).

Versuch.

Herstellungsweise des Giftes: Kaninchen 59 erhält am 21. Juni, 27. Juni, 6. Juli je 1 ccm Hammelserum intravenös; wird am 12. Juli entblutet. Das Serum wird, wie oben beschrieben, verarbeitet. 4 ccm der zweiten Giftfraktion werden am 15. Juli Meerschweinchen 95 (200 g) intravenös injiziert.

10¹² Injektion. Sofort etwas Krämpfe, Dyspnoe, spontaner Harnabgang, Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, liegen.

10⁴³ heftigste Krämpfe und Sprünge. Tier fällt auf die Seite, Reflexe schwach.

10⁴⁴ heftige Krämpfe, Seitenlage, agonale Atmung, Reflexe erloschen.

10⁴⁷ Tier tot. Obduktion sofort nach dem Tod: Herz schlägt noch ¹⁾, Lunge stark gebläht, überdeckt zum Teil die vordere Herzwand ²⁾.

4 ccm dieses Giftes wurden, wie oben beschrieben, getrocknet und bis zum 18. Juli im Exsikkator stehen gelassen, an diesem Tage $\frac{1}{2}$ Stunde auf 100—107° erhitzt, im Exsikkator abgekühlt, in 4 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und Meerschweinchen 101 (200 g) injiziert. (Geringfügiger Giftverlust bei der Injektion.)

11⁵³ Injektion. Sofort Dyspnoe, das Tier taumelt, leichte Krämpfe, gesträubtes Fell.

11⁵⁶ leichte Sprünge, Dyspnoe.

11⁵⁸ gleicher Befund.

Auf den Rücken gelegt, bleibt das Tier liegen.

12² Fell gesträubt, Dyspnoe, einzelne Sprünge.

12¹⁵ neue heftige Krämpfe, Sprünge, Tier legt sich auf die Seite, Reflexe erloschen, agonale Atmung.

12²⁰ Tier tot. Sofortige Obduktion: Herz +, Auer-Lewis +.

Am 23. Juli wird abermals der Inhalt einer Schale $\frac{1}{2}$ Stunde auf 100° erhitzt, wieder in 3 ccm Wasser gelöst und Meerschweinchen 102 (200 g) injiziert.

3⁶ Injektion. Sofort Dyspnoe, Krämpfe, Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

3⁷ hohe Sprünge, Tier fällt unter heftigsten Konvulsionen auf die Seite, versucht sich aufzurichten, fällt abermals nieder.

3⁸ stärkste Dyspnoe, Krämpfe.

3¹⁰ noch einzelne agonale Atemzüge, Reflexe erloschen.

3¹⁸ tot. Sofortige Obduktion: Herz +, Auer-Lewis +.

III.

Eine wesentliche Unannehmlichkeit beim Arbeiten mit Anaphylaxietoxin war anfangs der Umstand, daß die Herstellung in kleinen Mengen wirksamer Gifte nicht immer gelang; bei schwächeren Giften hätte man für Tiere von 200 g relativ zu große Flüssigkeitsmengen injizieren müssen, um sie zu töten. Die gewonnenen Erfahrungen ermöglichten eine Beseitigung dieser Schwierigkeit in der Weise, daß schwach wirksame Gifte

1) Im nachstehenden als „Herz +“ bezeichnet.

2) Im nachstehenden als „Auer-Lewis +“ bezeichnet.

einfach getrocknet und die Rückstände in einer geringeren, zur Injektion statthaften Menge destillierten Wassers aufgenommen wurden.

Versuch.

Herstellung des Giftes: Kaninchen 58 erhält am 21. und am 27. Juni je 1 ccm Hammelserum intravenös. Am 5. Juli wird entblutet und das Serum wie gewöhnlich verarbeitet.

Am 8. Juli erhält Meerschweinchen 84 (200 g) 4 ccm der II. Giftfraktion:

10²¹ Injektion. Tier zeigt etwas Dyspnoe, minimale Krämpfe, Reflexe deutlich erhalten.

10²² keine Dyspnoe mehr. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, liegen.

10³¹ Tier vollkommen erholt.

Nunmehr werden 6 ccm des Giftes im Faustschen Apparat getrocknet und der Rückstand in 3 ccm destilliertem Wasser aufgenommen. Diese 3 ccm werden dem Meerschweinchen 85 (200 g) injiziert.

7²¹ Injektion. Sofort heftige Dyspnoe, stärkste Sprünge, dann fällt das Tier auf die Seite, bleibt, auf den Rücken gelegt, bewußtlos liegen.

7²² Reflexe erloschen, einzelne Zuckungen, agonale Atmung.

7²³ Tier tot. Sofortige Obduktion: Herz +, Auer-Lewis +.

IV.

Des weiteren versuchten wir, allerdings ohne genügenden Erfolg Anaphylatoxin durch Knochenkohle zu absorbieren.

Die I. Giftfraktion vom Kaninchen 59 (s. oben) wurde zunächst auf ihre Giftigkeit geprüft:

Meerschweinchen 88 (195 g) erhält 4 ccm injiziert.

11¹⁴ Injektion. Sofort starke Krämpfe, Sprünge, spontaner Harnabgang. Tier wirft sich auf die Seite. Agonale Krämpfe, Reflexe erloschen. Nochmaliger Harnabgang.

11¹⁶ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

11¹⁷ Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Meerschweinchen 92 (220 g) erhält 3 ccm des Giftes injiziert.

3²⁷ Injektion. Etwas Krämpfe, spontaner Harnabgang.

4⁸ Dyspnoe, Lähmung der hinteren Extremitäten.

4⁸ Seitenlage. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

Dyspnoe, Reflexe schwach.

4¹⁰ Agonale Atmung, Reflexe erloschen.

4¹⁸ Immer noch vereinzelte Atemzüge.

4²³ Tier tot. Sofortige Sektion: Auer-Lewis +, Herz +.

Meerschweinchen 89 (200 g) erhält 2,0 ccm Gift injiziert.

- 11²¹ Injektion. Sofortige Dyspnoe. Sehr beschleunigte Atmung.
Leichte Krämpfe. Tier taumelt, bleibt, auf den Rücken gelegt,
ruhig liegen.
11²² Dyspnoe, keine Krämpfe mehr, Reflexe vorhanden.
11³⁰ keine Dyspnoe mehr, Tier erscheint matt, aber sonst normal.

Nunmehr wurden 12 ccm des Giftes mit 3 Messerspitzen Knochenkohle versetzt und 3 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Dann wurde von der Kohle scharf abzentrifugiert und 4 ccm der Flüssigkeit dem Meerschweinchen 90 (200 g) injiziert.

- 3¹⁶ Injektion. Deutliche Dyspnoe. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, nicht liegen. Keine Krämpfe.
3^{17 1/2} noch etwas Dyspnoe.
3³⁰ Tier wieder erholt.

Meerschweinchen 91 (185 g) erhält 5 ccm der Flüssigkeit injiziert.

- 3²⁰ Injektion. Sofort starke Sprünge. Dyspnoe. Seitenlage. Reflexe erloschen.
3²¹ agonale Atmung.
3²² Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Es kann somit nur von einer geringen Abschwächung des Anaphylaxietoxins durch Einwirkung der Knochenkohle gesprochen werden. Um sicherzustellen, ob überhaupt etwas von dem Anaphylatoxin von der Knochenkohle adsorbiert war, wurde sie mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und dann mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung 4 Stunden lang geschüttelt. Dann wurde auf 10 ccm verdünnt, scharf abzentrifugiert und 5 ccm dem Meerschweinchen 93 (200 g) injiziert.

- 8¹ Injektion. Sofort etwas Dyspnoe, gesträubtes Fell, geringe Krämpfe. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, kurze Zeit liegen. Reflexe erhalten.
8⁵ beschleunigte Atmung.
8³⁰ Tier erholt.

V.

Weitere Versuche wurden von uns angestellt, um etwas über die chemische Natur des Anaphylatoxins zu eruieren. Bei der außerordentlichen Labilität dieses Stoffes und seiner großen Empfindlichkeit gegen Eingriffe jeder Art bestand a priori keine Möglichkeit, ihn zu isolieren, um so weniger, als ja derartige Versuche auch bei weit widerstandsfähigeren

Toxinen, z. B. Diphterietoxin, bisher absolut erfolglos geblieben sind.

Wir suchten zunächst festzustellen, ob das Anaphylatoxin zu den lipoiden Stoffen zählt bzw. ob es in seiner Wirksamkeit vom Vorhandensein letzterer abhängig ist.

Man muß bei Extraktionsversuchen besonders darauf achten, daß das Extraktionsmittel (Aether und Chloroform) sorgfältig entfernt wird, da, wie wir durch Kontrollversuche feststellen konnten, geringe Mengen dieser Stoffe intravenös injiziert Symptome erzeugen können, die zu einer Verwechslung mit anaphylaktischen Erscheinungen Veranlassung geben können. Namentlich dürfte es nicht allgemein bekannt sein, daß Chloroform (allerdings mit Herzstillstand) und Aether, Meerschweinchen intravenös injiziert, starke Lungenblähung erzeugen.

Unsere Versuche führten zum Resultat, daß die Entfernung der Lipoiden aus dem Anaphylatoxin dasselbe in seiner Wirksamkeit nicht fördert, aber auch nicht im geringsten schädigt. Als Beweis mögen die folgenden Protokolle dienen:

Am 7. Juli erhält Meerschweinchen 80 (200 g) 3 ccm Gift, bereitet mit Serum Kaninchen 58, I. Fraktion (s. oben).

3¹⁰ Injektion.

3¹² leichte Krämpfe der hinteren Extremitäten. Reflexe erhalten, etwas Dyspnoe.

3¹⁴ Tier erscheint matt, sonst erholt.

Meerschweinchen 81 (198 g) erhält 4 ccm injiziert.

3¹⁷ Injektion. Sofort starkes Zittern und Dyspnoe, dann heftige Krämpfe. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

3¹⁸ Reflexe erloschen, ganz vereinzelte Atemzüge.

3¹⁸¹/₂ Tier tot. Sofortige Sektion: Auer-Lewis +, Herz +.

Nunmehr werden 20 ccm des Giftes 3mal mit je 200 ccm Aether je 5 Minuten sehr energisch geschüttelt, hierauf in Petrischalen in Portionen von je 3 bzw. 4 ccm verteilt. Dann wird, um jede Spur Aether zu entfernen, im Faustschen Apparate vollständig getrocknet.

Ein aus 3 ccm erhaltener Rückstand wird in destilliertem Wasser aufgenommen und Meerschweinchen 82 (200 g) injiziert.

5¹⁹ Injektion. Sofort etwas Dyspnoe, Tier taumelt, zeigt leichte Krämpfe. Reflexe erhalten.

5²¹ etwas beschleunigte Atmung, sonst normal.

5³² Tier vollständig erholt.

Nunmehr wird ein aus 4 ccm erhaltenes Trockengift in 4 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und Meerschweinchen 83 (195 g) injiziert.

5⁴⁸ Injektion. Sofort Sprünge, Dyspnoe. Dann stärkste Krämpfe. Tier fällt auf die Seite.

5^{48 1/2} Reflexe erloschen, agonale Atmung.

5⁴⁷ Tier tot. Sofortige Sektion: Auer-Lewis +, Herz +.

Versuch.

Herstellung des Giftes: Kaninchen 20 erhält am 24. und 30. Mai, sowie am 6. Juni je 1 ccm Hammelserum intravenös. Am 13. Juni wird es entblutet, das Serum wie üblich weiter verarbeitet.

3 ccm Gift werden dem Meerschweinchen 47 (197 g) injiziert.

9⁸ Injektion. Sofort typische Sprünge, starke Dyspnoe, Krämpfe, Tier fällt auf die Seite.

9⁴ Reflexe erloschen. Sehr vereinzelte Atemzüge.

9⁶ Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

12 ccm Gift werden, wie im vorigen Versuch, mit Aether extrahiert und in Fraktionen zu 3 bzw. 2 ccm getrocknet. Ein Trockengift aus 3 ccm wird in 3 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und Meerschweinchen 48 (183 g) injiziert.

12⁸ Injektion. Tier geht unter heftigsten Krämpfen, starker Dyspnoe, typischen Sprüngen in 1 1/2 Minuten zugrunde. Sektion sofort nach dem Tode: Herz +, Auer-Lewis +.

Meerschweinchen 53 (195 g) erhält Trockengift von 2 ccm, in 2 ccm destilliertem Wasser aufgenommen, injiziert.

6³² Injektion. Tier zeigt starke Krämpfe, starke Dyspnoe, wirft sich auf die Seite.

6³⁸ Tier liegt auf der Seite, ist stark dyspnoisch, Reflexe erloschen.

6³⁸ Tier atmet leichter, versucht sich zu erheben.

6⁵⁰ Tier erscheint erholt.

Um sicherzustellen, ob nicht doch ein Teil des Anaphylatoxins in den Aether übergegangen war, wurde der Aether aus allen Fraktionen vereinigt, eingedampft, der Rückstand in 3 ccm Kochsalzlösung emulsioniert und Meerschweinchen 58 (200 g) injiziert.

6⁵¹ Injektion. Tier erscheint sofort nach der Injektion und auch weiterhin vollkommen normal¹⁾.

1) Bei dieser Gelegenheit sei kurz erwähnt, daß wir untersucht haben, ob die lipoiden Substanzen auch zur Bildung von Anaphylatoxin erforderlich sind oder nicht. Es geschah dies in der Weise, daß die Präzipitate aus Kaninchen 20 nach Abzentrifugierung der ersten Giftfraktion zum Teil je dreimal mit je 50 ccm Aether je 5 Minuten lang ausgeschüttelt wurden. Hierauf wurde ein Teil der entfetteten sowie ein Teil der nicht entfetteten

VI.

Nachdem durch diese Versuche erwiesen war, daß das Anaphylatoxin mit den lipoiden Substanzen des Serums nichts zu tun hat, ergab sich die Frage, welcher Gruppe von Eiweißkörpern das Gift angehöre. Um der Frage näher treten zu können, mußte zunächst festgestellt werden, ob das Gift Ausfällungsprozeduren ohne Einbuße an Wirksamkeit verträgt. Es wurde zunächst ermittelt, daß eine Ausfällung mit Alkohol ohne Zerstörung des Giftes gelingt.

Versuch I.

6 ccm von dem Gift, bereitet mit Serum Kaninchen 20 (siehe oben), werden mit dem 10-fachen Volumen 99-proz. Alkohols gefällt, sofort auf der Nutsche scharf abgesaugt, dann in physiologischer Kochsalzlösung (6 ccm) verrieben; fast restlose Lösung. Diese kommt in einer flachen Schale in den Faustschen Apparat, wird getrocknet und wieder in

Präzipitate mit Komplement, das in analoger Weise ausgeäthert worden war, versetzt, während die anderen Proben mit normalem Komplement versehen wurden. Hierauf wurde in gewöhnlicher Weise bis zum nächsten Tag gewartet und folgende Versuchsserie angestellt.

Meerschweinchen 71 (200 g) erhält 3 ccm Gift aus normalem Präzipitat und normalem Komplement.

10⁵⁷ Injektion. Tier erscheint sofort etwas matt, dyspnoisch, bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

11⁰ Schwere Dyspnoe, Krämpfe, Sprünge.

11¹⁰ Tier erhebt sich wieder, ist aber noch dyspnoisch.

12⁰ Tier erscheint wieder erholt.

Meerschweinchen 72 erhält 3 ccm Gift aus ausgeäthertem Präzipitat und ausgeäthertem Serum.

11¹⁵ Injektion. Tier erscheint etwas dyspnoisch, bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen, hat leichte Krämpfe.

11³⁵ Tier erscheint etwas matt, sonst erholt.

Meerschweinchen 73 (190 g) erhält 3 ccm Gift aus ausgeäthertem Präzipitat und normalem Komplement.

11³⁰ Injektion. Tier zeigt zunächst gar keine pathologischen Symptome, nach $\frac{1}{2}$ Minute etwas Dyspnoe, die binnen weiteren 2 Minuten verschwindet.

Dieser Versuch scheint für eine leichte Störung der Anaphylatoxinbildung bei Entfernung der Lipoide aus dem Präzipitate zu sprechen, doch muß derselbe mit größter Vorsicht beurteilt werden, da die Schädigung der Giftbildung auch auf andere Ursachen, z. B. teilweise Denaturierung der Eiweißkörper des Präzipitates durch Aether zurückgeführt werden könnte.

5 ccm destilliertem Wasser aufgenommen. Meerschweinchen 60 (175 g) erhält davon 4 ccm injiziert.

10²² Injektion. Starke Krämpfe, Dyspnoe, Tier fällt auf die Seite. Krampfartige Bewegungen der hinteren Extremitäten. Reflexe erloschen.

10²⁴ 1/2, Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Versuch II.

Gift von Kaninchen 59 (siehe oben, siehe daselbst auch Wirksamkeit).

6 ccm dieses Giftes werden in genau gleicher Weise wie in Versuch I behandelt. Der schließlich erzielte trockene Rückstand wird in 5 ccm destilliertem Wasser aufgenommen und dem Meerschweinchen 109 (220 g) injiziert.

6¹⁰ Injektion. Sofort Seitenlage und schwerste Krämpfe. Reflexe erloschen, agonale Atmung. Das Tier ist in einer Minute tot. Sofortige Sektion ergibt Herz +, Auer-Lewis +.

VII.

Fernerhin wurden Versuche angestellt, das Anaphylatoxin durch fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat in eine Albumin- und eine Globulinfraction zu zerlegen. Dies scheiterte aber an dem Umstand, daß Ammonsulfat selbst ein heftiges Krampfgift ist und seine vollständige Entfernung eine tagelange Dialyse erfordert, die das Anaphylatoxin nicht verträgt. Wir mußten uns mit dem freilich weniger vollkommenen Verfahren begnügen, die Anaphylatoxinlösung durch 24-stündige Dialyse gegen fließendes Wasser in eine wasserlösliche und eine wasserunlösliche (Globulin-)Fraktion zu teilen und zu prüfen, welche Fraktion die typischen Erscheinungen hervorruft. Der Versuch wurde dreimal, immer mit gleichem Erfolg, wiederholt.

12 ccm Gift, bereitet aus Serum Kaninchen 59, II. Fraktion (siehe oben), werden mit destilliertem Wasser auf 120 g verdünnt und in einem engen, aus Hundedarm präparierten sehr feinen Dialyserschlauch 24 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert. Am nächsten Tage ist ein reichlicher Niederschlag ausgefallen.

Er wird durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit abgetrennt, gewaschen (destilliertes Wasser) und in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen; fast restlose Lösung. Meerschweinchen 94 (194 g) erhält die Globulinfraction injiziert.

9⁵³ Injektion. Tier zeigt sofort etwas Zittern, sonst aber und späterhin absolut keine pathologischen Symptome.

Die Flüssigkeit (Albuminfraktion) wird im Faustschen Apparat bei 37° in einer flachen Schale eingedampft (Dauer 6 Stunden).

Nach vollendeter Trocknung wird die Albuminfraktion in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung an Meerschweinchen 96 (210 g) injiziert.

3⁵⁰ Injektion. Sprünge, Dyspnoe, Hinterbeine gelähmt, Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

3⁵⁵ starke Dyspnoe.

4¹² Dyspnoe, Seitenlage.

4²⁰ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

4²² Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Versuch III.

12 ccm Gift der II. Fraktion von Kaninchen 59 werden in genau gleicher Weise dialysiert, die Trennung in eine Albumin- und Globulinfraktion in genau gleicher Weise vorgenommen und die Albuminfraktion dem Meerschweinchen 97 (200 g) injiziert.

6² Injektion. Sofort Dyspnoe. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen, dann hohe Sprünge.

6⁴ abermals Sprünge, das Tier fällt auf die Seite.

6⁵ agonale Atmung, Reflexe erloschen.

6¹⁰ Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Meerschweinchen 98 (200 g) erhält die Globulinfraktion injiziert (enthält einige ungelöste Gerinnsel).

6¹⁷ Injektion. Tier zittert etwas, zeigt aber absolut keine Krämpfe und keine Dyspnoe.

6¹⁸ Tier fällt auf die Seite, absolut keine Krämpfe und Sprünge.

6¹⁹ Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis negativ.

Es scheint die Annahme berechtigt, daß letzteres Tier nicht durch Anaphylatoxinwirkung, sondern infolge einer Embolie zugrunde gegangen ist. Um jedoch jeden Zweifel auszuschalten, wurden 12 ccm desselben Giftes, die im Faustschen Apparat getrocknet und im Exsikkator aufbewahrt worden waren, in 120 g Wasser aufgenommen, wieder dialysiert und wieder in eine Albumin- und Globulinfraktion zerlegt.

Am folgenden Tage erhält Meerschweinchen 99 (200 g) die Globulinfraktion injiziert, nachdem sie ohne Verluste durch Watte filtriert worden war.

6³⁰ Injektion. Tier zittert ein wenig, zeigt aber weder sofort noch später irgendwelche pathologischen Symptome.

Meerschweinchen 100 (200 g) erhält die Albuminfraktion injiziert.

6⁴⁰ Injektion. Sofort allerheftigste Sprünge und Krämpfe, schwerste Dyspnoe, Seitenlage unter fortwährenden Krämpfen.

6⁴⁰ 1/4 Reflexe erloschen, agonale Atmung.

6⁴¹ Tier tot, sofortige Sektion: Auer-Lewis +, Herz +.

Somit gehört das Anaphylatoxin nicht zu den Globulinen.

VIII.

Anhangsweise sei hier ein Versuch beschrieben, welcher mit dem Thema der vorliegenden Arbeit in gewissem Zusammenhang steht. Es handelt sich um die Frage, ob Anaphylatoxin auch aus Komplement und solchen Präzipitaten entsteht, die durch längeres Kochen aller etwa vorhandener thermolabiler Bestandteile beraubt sind.

Versuch.

Herstellung des Giftes: Kaninchen 63 erhält am 7. und am 12. Juli je 1 ccm Hammelserum intravenös. Am 20. Juli wird entblutet und das Serum wie gewöhnlich verarbeitet. Von den am folgenden Tage erhaltenen Präzipitaten wird nach Waschung die eine Hälfte 10 Minuten lang mit physiologischer Kochsalzlösung gekocht, hierauf scharf abzentrifugiert und nach Abgießen der Kochsalzlösung wird jede der Proben wie gewöhnlich mit je 3 ccm Komplement versetzt. Am folgenden Tag wird das aus den gekochten Präzipitaten erhaltene Gift einerseits, das aus den nicht gekochten erhaltene Gift andererseits gesammelt und es werden folgende Proben angestellt.

A. Aus gekochtem Präzipitat erhaltenes Gift.

Meerschweinchen 104 (200 g), erhält 3 ccm injiziert.

3¹⁸ Injektion. Sofort stärkste Krämpfe, Sprünge, dann fällt das Tier auf die Seite, bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

3¹⁹ Seitenlage, agonale Atmung.

3²⁰ Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Meerschweinchen 106 (200 g) erhält 2 ccm.

3²¹ Injektion. Tier taumelt, dann Dyspnoe, Krämpfe, Sprünge, spontaner Harnabgang, Tier fällt unter Krämpfen auf die Seite.

3²⁴ abermals Krämpfe und Sprünge. Tier bleibt, auf den Rücken gelegt, ruhig liegen.

3⁴⁶ agonale Atmung, Reflexlosigkeit.

3⁵² Tier tot. Sofortige Obduktion: Herz +, Auer-Lewis +.

B. Aus nicht gekochtem Präzipitat erhaltenes Gift.

Meerschweinchen 107 (200 g) erhält 3 ccm injiziert.

3³⁷ Injektion. Tier hat sofort heftigste Krämpfe, fällt auf die Seite, Dyspnoe.

3³⁸ agonale Krämpfe, vereinzelte Atemzüge.

3^{38 1/2} Tier tot. Sofortige Sektion: Herz +, Auer-Lewis +.

Meerschweinchen 108 (200 g) erhält 2 ccm Gift injiziert.

3⁴⁴ Injektion. Sofort Krämpfe, Sprünge, Dyspnoe, Tier fällt auf die Seite.

3⁴⁶ Reflexe erloschen, agonale Atmung.

3⁵¹ Tier tot. Obduktion sofort: Herz +, Auer-Lewis +.

Es gelingt also, aus gekochten Präzipitaten ein mindestens ebenso wirksames Anaphylatoxin zu erzeugen wie aus nicht gekochten.

Das ist zunächst auffallend, aber nicht weiter verwunderlich, nachdem Friedberger und Pinczower (Centralbl. f. Bakteriол., Bd. 45) gezeigt haben, daß Antikörper nach Verankerung an ihr Antigen koktostabil geworden sind.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Versuche über das physikalisch-chemische Verhalten des Anaphylatoxins. Resultate:

1) Es gelingt, Anaphylatoxin ohne Einbuße an Wirksamkeit zu trocknen.

2) Es ist möglich, schwach wirksames Gift durch Eintrocknung und nachheriges Aufnehmen in geringere Flüssigkeitsmengen zu konzentrieren.

3) Anaphylatoxin gehört nicht den äther- und chloroformlöslichen Bestandteilen des giftigen Serums an und letztere haben auf seine Giftigkeit keinen Einfluß.

4) Man kann Anaphylatoxin, ohne es zu zerstören, mit Alkohol ausfällen.

5) Anaphylatoxin gehört nicht zu den Globulinen.

6) Es gelingt, wirksames Anaphylatoxin auch durch Einwirkung von Komplement aus gekochten Präzipitaten zu erzeugen.

Nachdruck verboten.

[Aus der hygienischen Abteilung der K. B. Militärärztlichen Akademie in München. Vorstand: Stabsarzt und Dozent Dr. Georg Mayer.]

Peptolytische Fermente und Immunstoffe im Blut.

Von Dr. Georg B. Gruber.

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Juli 1910.)

Abderhalden hat in Emil Fischers Laboratorium die Einwirkung des Magensaftes und des Pankreassekretes auf verschiedene, synthetisch gewonnene, zur Gruppe der Peptide gehörende Körper beobachtet (1). Dabei ergab sich, daß wohl der Pankreassaft, nicht aber das Sekret der Magendrüsen Polypeptide anzugreifen und in niedere Abbaustufen zu zerlegen vermag. Weiterhin wurde festgestellt, daß bestimmte Körper aus der uns bisher bekannten Reihe der Polypeptide zwar von Fermenten des Darmsaftes und von Organzellfermenten gespalten werden, daß sie aber dem Pankreassaft widerstehen (2, 3). Da jedoch im allgemeinen das Pepsin des Magensaftes polypeptische Verbindungen nicht beeinflussen kann, während sie der tryptischen Fermentwirkung anderer Sekrete unterliegen, erwiesen sich die Polypeptide als brauchbares Hilfsmittel zur Unterscheidung tryptischer und peptischer Gruppen unter den proteolytischen Fermenten, worauf von Abderhalden und seinen Mitarbeitern wiederholt hingewiesen wurde (4, 5).

Die Eigenschaft polypeptischer Verbindungen, die Ebene des polarisierten Lichtes zu drehen, eine Eigenschaft, die beim Abbau der Polypeptide in Spaltprodukte mehr oder weniger verschwindet, führte zu der sogenannten „optischen Methode“ des Nachweises peptolytischer Fermente; mit anderen Worten, man stellt mit Hilfe des Polarisationsapparates auf Grund der Drehungsänderung der Lichtebene das Vorhandensein von tryptischen Fermenten in einer Mischung fest, die gewissermaßen als Indikator, als Angriffspunkt, einen polypeptischen Körper enthält (6). Als brauchbare Indikatoren erschienen namentlich die durch Emil Fischer dargestellten,

synthetischen und optisch aktiven Polypeptide; die genaue Kenntnis ihres Aufbaues und der Stufenleiter ihres Abbaues ließ sogar zu, daß Drehungsänderungen im Polarisationsapparat zur quantitativen Untersuchung bestimmter Fermentwirkungen herangezogen werden konnten (7, 8). Da die synthetische Gewinnung von Peptiden eine ebenso schwierige wie zeitraubende Sache ist, welche die große Übung und technische Sicherheit eines geschickten Chemikers erfordert, erscheinen derartige Verbindungen praktisch vielfach ungeeignet als Indikatoren zum bloßen Fermentnachweis, wenn es gilt, größere Reihen von Versuchen vorzunehmen. Diesen Schwierigkeiten hat uns Abderhalden entrückt durch die Darstellung polypeptischer Körper aus Seide, die vermittelt partieller Hydrolyse durch 70-proz. Schwefelsäure in der Kälte vor sich geht. Auch derartiges Seidenpepton ist zur optisch-polarimetrischen Kontrolle der tryptischen Fermentwirkungen geeignet — wenn auch nur in qualitativer Hinsicht; zudem ist Seidenpepton billiger und auch für nicht-chemische Laboratorien zugänglich (7–10).

In einer ansehnlichen Folge von Arbeiten hat nun Abderhalden nebst seinen Mitarbeitern mancherlei Erfahrungen niedergelegt, die sie über die peptolytische Wirkung verschiedener Organpreßsäfte und Körpersäfte sammelten. Bei der Prüfung des Verhaltens synthetischer Polypeptide gegen Organpreßsäfte kam auch das Verhalten gegen Blutserum zur Untersuchung. Das ohne besondere Vorsichtsmaßregeln gewonnene Blutserum rief weitgehende Spaltungen des polypeptischen Indikators hervor (11); dies veranlaßte eine Reihe von Forschungen über das Verhalten zwischen Blutbestandteilen und Polypeptiden. Dabei ergab sich, daß vorsichtig gewaschene rote Blutkörperchen und Blutplättchen des Pferdes (12, 13), nicht aber Plasma und Serum¹⁾ des Tieres abbauende Fermente enthalten (14); doch scheint die Anwesenheit von Serum oder Plasma im Brei roter Blutkörperchen den peptolytischen Abbau durch tryptische Fermente zu begünstigen (13). Auch beim Rinde ließen sich ähnliche Verhältnisse nachweisen (15, 16), doch wurden bei verschiedenen Tierarten Unterschiede im Verhalten des Serums bzw. Plasmas gegen Polypeptide festgestellt (17). Namentlich sei hervorgehoben, daß das Serum von normalen Meerschweinchen Seidenpepton spaltet, während dies nicht vom Serum normaler Kaninchen gilt (18).

Außerordentlich interessant ist es, daß Abderhalden und Pincussohn durch parenterale Zufuhr artfremder Eiweißstoffe eine peptolytische Wirkung des Blutplasmas hervorrufen oder doch erhöhen bzw. beschleunigen konnten (17), ja daß es gelang, auch noch mit Abbauprodukten von Eiweißkörpern die fermentative Kraft des Blutserums gegenüber Peptonen zu beeinflussen und daß diese peptolytische Wirkung stets durch halbstündiges Erhitzen auf 60° aufgehoben wurde, daß man ein derartiges Serum „inaktivieren“ kann (19, 20). Also: „Es gelingt, durch wiederholte Zufuhr von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten — Peptonen — das Serum der Versuchstiere — Kaninchen —

1) Serum und Plasma scheinen nur Tri- und Tetrapeptide zu spalten.

mit Eigenschaften auszurüsten, die ihm vorher nicht zukamen.“ Diese Eigenschaften verhalten sich aber nicht spezifisch gegenüber dem eingeführten Eiweißkörper (21). Solche an die Bildung und Eigenschaften von bestimmten Immunstoffen erinnernden Verhältnisse treten im Blutserum manchmal schon sehr bald nach Verabreichung des erregenden Eiweißquantums auf. Schon nach 2 Tagen gelang ihr Nachweis (21, 22), 3—4 Wochen scheint die Wirkung anzuhalten.

Es lag nahe, diese Fähigkeiten des Blutserums nach parenteraler Eiweißzufuhr mit den uns bekannten Erscheinungen der Bildung von Immunstoffen in Zusammenhang zu bringen. Wiederholt forderte Abderhalden selbst zu einer Prüfung dieser Verhältnisse und zu einer Anwendung der „optischen Methode“ im Gebiete der Immunitätsforschung auf¹⁾.

Herrn Stabsarzt Dr. Georg Mayer danke ich die Anregung, mit den Mitteln der K. B. Militärärztlichen Akademie bei der Beantwortung der mannigfachen Fragen mitzuwirken, die durch die Feststellungen der Abderhaldenschen Schule aufgeworfen worden sind.

I. Meine Aufgabe bestand zunächst darin, das Blutserum eines zur Hämolysinerzeugung mit roten Hammelblutkörperchen immunisierten Kaninchens auf seine peptolytische Wirkung zu untersuchen. Gleichzeitig prüfte ich Hämoglobininlösungen vom Blute dieses Tieres, ob sie nicht ebenfalls jenes fermentative Vermögen besäßen, wie es durch Abderhalden und Deetjen etc. auf chemischem Wege am Blutkörperchenbrei festgestellt wurde.

Zur Technik der Versuche muß bemerkt werden, daß nur ein Serum zur Verwendung kommen darf, das keine gelösten roten Blutkörperchen enthält und gut auszentrifugiert ist. Ist das Serum infolge Zerstörung roter Blutkörperchen hämoglobinhaltig, so sind fehlerhafte Resultate bei der Ablösung am Polarisationsapparat sehr leicht möglich, wie auch Abderhalden und Teruuchi fanden (11). — Die zur Verwendung gelangenden Hämoglobininlösungen wurden folgendermaßen hergestellt: das durch Schütteln mit Glasperlen defibrinierte Blut wurde wiederholt (dreimal) mit 0,85-proz. NaCl-Lösung gewaschen und auszentrifugiert. Der Blutkörperchensatz wurde durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung auf das entsprechende Blutvolumen aufgeschwemmt und davon mit destilliertem Wasser

1) Namentlich erhoffte er sich hierdurch einige Klärung des Präzipitations- und Agglutinationsvorganges, wie er auch der Vermutung Ausdruck gab, es möchten auch Bakterien ähnlich den Eiweißkörpern peptolytische Serumwirkungen veranlassen können.

eine 1-proz. Verdünnung gemacht. Diese Aufschwemmung wurde noch einmal gründlich zentrifugiert und die obere Hälfte der Lösung zum Versuch verwendet.

Bei allen Versuchen kam eine 10-proz. Lösung von „Pepton Roche“¹⁾ in physiologischer Kochsalzlösung zur Verwendung; die Lösung wurde zu jeder Versuchsserie frisch angesetzt und die Konstanz ihres Drehungsvermögens festgestellt.

Zur Polarisation diente ein von der Firma Schmidt & Haensch gebautes Lippichsches Halbschattenpolarimeter mit $\frac{1}{100}$ -Gradeinteilung. Die Polarisationsröhrchen (1 dm-Röhrchen) wurden bei 37° vorgewärmt — ebenso wie die verschiedenen Agentien — und nach ihrer Füllung und Bestimmung der Anfangsdrehung sofort in den 37°-Brutschrank verbracht, aus dem sie nur ganz kurz herausgenommen und zum Zweck der Ablesung in den Polarisationsapparat gelegt wurden.

Es sei schon hier vorweg genommen, daß bei den geringen Drehungsänderungen der Lösungen, die bei solchen Fragen in Betracht kommen, die Ablesung des Drehungswinkels außerordentlich leicht zu Fehlbeobachtungen Anlaß geben kann; handelt es sich doch nur um $\frac{1}{100}$ Grade! Es ist darum eine Einübung und mehrfache Ablesung jeder Probe unerlässlich, will man sich einigermaßen vor Fehlern schützen; die Fehler der Ablesung ganz auszuschließen, halte ich für unmöglich — und glaube, daß hierin eine schwache Seite der „optischen Methode“ liegt, die äußerst weittragend wird, wenn sich noch Trübungen²⁾ in der zu prüfenden Flüssigkeit einstellen (Präzipitatbildung) oder wenn der Apparat nicht sehr lichtstark ist.

Was nun die Versuche mit dem Serum des Hämolysekaninchens anbelangt, so kann ich auf eine Wiedergabe der Ablesungskurven verzichten, da sie im Sinne der Abderhaldenschen Befunde ausfielen.

Doch sei bemerkt: das Tier, das vor Beginn meiner Untersuchungen bereits als Hammelblutimmuntier gedient hatte, zeigte, als ich es übernahm, einen hämolytischen Serومتiter von 1:160; das gleiche Serum erwies sich im Polarisationsapparat als optisch konstant gegenüber der Seidenpeptonlösung. Nun wurden dem Kaninchen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 10 cem Hammelblutkörperchenbrei in die Bauchhöhle eingespritzt — das

1) Bezugsquelle: Chemische Fabrik Hofmann — La Roche, Grenzach (Baden) — Basel.

2) Natürlich muß steril gearbeitet werden, um Bakterientrübungen in den Polarisationsröhrchen zu vermeiden.

zugehörige Hammelserum war ebenfalls nicht peptolytisch — und am 7. Tage danach Blut entnommen. Diesmal war der hämolytische Titer 1:320, das aktive Serum erwies sich als fermenthaltig, wenn auch die Kurve nicht sehr steil ausfiel. Eine abermalige Injektion hatte nach 16 Tagen ein Steigen des hämolytischen Titors auf 1:640 zur Folge. Wiederum war eine peptolytische Wirkung des Serums nachweisbar; ein gleiches war 11 Tage nach abermaliger Injektion festzustellen. Als aber 30 Tage nach der letzten Blutkörpercheneinspritzung das „optische“ Verhalten der Pepton-Serummischung geprüft wurde, trat kein Abbau ein, gleichviel war der hämolytische Titer mit 1:480 noch recht erheblich.

Auch die optische Inaktivierung des Serums durch halbstündiges Erhitzen auf 60 — einstündiges Erhitzen auf 56 hatte ebenfalls diesen Erfolg — konnte bestätigt werden. Versuche, dies inaktivierte Serum durch Zusatz kleinerer oder größerer Mengen eines an sich nicht peptolytischen, frischen (im Sinne der Immunitätslehre „aktiven“) Serums optisch zu reaktivieren, gelangen nicht, dagegen wurde die hämolytische Fähigkeit dadurch wiederhergestellt.

Die Prüfung der Hämoglobinlösungen, die auch bei den anderen Tieren stattfand, deren ich aber nicht mehr Erwähnung tun werde, verlief ohne positives Resultat. Es konnte keine peptolytische Wirkung festgestellt werden, auch nicht nach Zusatz von frischem, an sich nicht abbauenden Kaninchenserum. Man darf wohl annehmen, daß die peptolytischen Eigenschaften des Erythrocytenbreies oder des blutig gefärbten Serums eines nicht vorbehandelten gesunden Kaninchens nicht durch das Hämoglobin bewirkt werden. Ob im Falle des blutig tingierten Serums nicht etwa gleichfalls zur Lösung gekommene Leukocyten an der peptolytischen Fähigkeit schuld sind, ist nicht unwahrscheinlich, ist ja selbst beim gewaschenen und im Präparat durchgemusterten Brei von roten Blutkörperchen die Herkunft des tryptischen Fermentes von geschädigten Leukocyten immerhin nicht ganz unmöglich.

Es fragt sich natürlich auch, wie weit wir die Leukocyten als Quellen peptolytischer Stoffe zu betrachten haben. Daß aus zugrunde gegangenen Leukocyten, aus Eiter tryptische Fermente frei werden, ist längst bekannt. Demgemäß sind eitrige Exsudate — z. B. Lumbalflüssigkeit von Cerebrospinalmeningitikern — ein sehr geeignetes Material zum Studium der Einwirkung spaltender Stoffe auf Seidenpepton mittelst der optischen Methode.

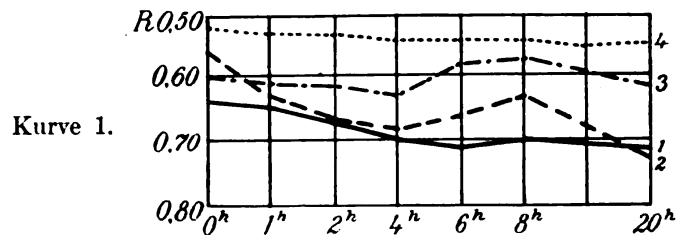
Durch die Arbeiten Rud. Schneiders (23) lernten wir einfache Methoden der Gewinnung von Extraktstoffen aus lebenden Leukocyten

kennen. Schneider digeriert wiederholt gewaschene weiße Blutkörperchen bei 38° in verdünntem, inaktiviertem, fremdartigem Serum etwa eine halbe Stunde; darnach zeichnete sich die Digestionsflüssigkeit durch hohe bakterizide Wirkung aus (Leukinwirkung). Bei wenigen Versuchen aus lebenden Leukocyten des Meerschweinchens peptonspaltende Stoffe zu gewinnen, ergab sich, daß schon die zum Auswaschen des Leukocytenbreies benützte und scharf abzentrifugierte Kochsalzlösung das Seidenpepton spaltete, daß es also einer Digestion in Serum gar nicht bedurfte. Doch soll auf diese Versuche nicht allzuviel Gewicht gelegt werden; denn wenn man schon an der Phagocytose der gewaschenen Leukocyten und in ihrer Betrachtung auf dem erwärmten Objektisch eine allgemeine Kontrolle darüber hat, daß die der Digestion unterworfenen weißen Blutkörperchen noch leben, sind wir doch niemals sicher, ob nicht so und so viele trotzdem durch das Zentrifugieren schwer verletzt, ja abgetötet und hierdurch unfreiwillig zu Fermentquellen wurden. Jedenfalls bedarf die Frage nach der Rolle der Leukocyten als Fermentspender, die Frage nach der peptolytischen Wirksamkeit von Leukocytenextraktstoffen noch einer eingehenden Bearbeitung in breit angelegten Versuchsreihen, zumal Müller und Jochmann (26) bei Meerschweinchen und Kaninchenleukocyten mittels ihrer am denaturierten Eiweiß der Löfflerplatte vorgenommenen Versuche kein tryptisches Ferment nachweisen konnten. In gleicher Weise wie die Leukocytenstoffe, müßten auch noch die durch Digestion gewonnenen Blutplättchenstoffe untersucht werden, die Gruber und Futaki (24 und 25) gelegentlich ihrer Milzbrandstudien als Quellen von Abwehrstoffen kennen lernten. Darüber sind weitere Versuche im Gange.

II. Es soll nun über Versuche mit dem Serum von Tieren berichtet werden, welche zur Erzeugung von Präzipitin mit artfremdem Eiweiß vorbehandelt waren; und zwar wurden 3 Kaninchen teils mit Pferdeserum, teils mit dem Eiweiß des Hühnereies immunisiert. Vor der Immunisierung, die bei dem einen Pferdeserum-Kaninchen nach der Fornetschen Angabe (27) mit großen Dosen intraperitoneal vorgenommen wurde, war das Serum der Tiere frei von peptolytischen Fermenten. Als ein hoher Präzipitingehalt erreicht war, wurde das peptolytische Vermögen untersucht und entsprechend den Abderhaldenschen Befunden ein deutlicher Abbau des Seidenpeptons wahrgenommen. Durch halbstündiges Erhitzen auf 60° trat Verlust des Fermentes ein, der durch Zugabe von normalem Serum nicht wett gemacht werden konnte. Es seien nun einige Kurven nebst Auszügen aus den Protokollen wiedergegeben, welche sich auf den Präzipitationsvorgang selbst beziehen.

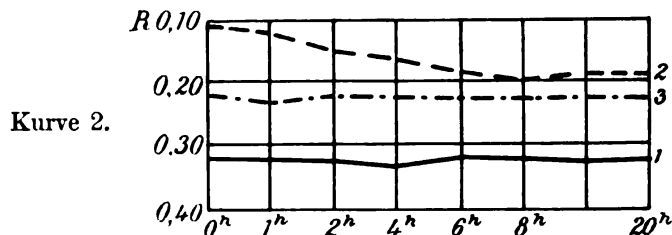
Pferdeserum-Kaninchen.

20. IV. Präzipitintiter des Serums = 1:2000.



- | | | |
|----------------------------|-----|--|
| 1) Pferdeserum inaktiviert | 1,0 | |
| Antiserum aktiv | 1,0 | |
| Seidenpepton 10-proz. Lös. | 0,5 | |
| NaCl-Lösung (0,85-proz.) | 7,5 | |
| 2) Pferdeserum inaktiviert | 1,0 | |
| Antiserum inaktiviert | 1,0 | |
| Seidenpepton 10-proz. Lös. | 0,5 | |
| NaCl-Lösung | 7,5 | |
| 3) Pferdeserum inaktiv | 1,0 | |
| Antiserum aktiv | 1,0 | |
| NaCl-Lösung | 8,0 | |
| 4) Pferdeserum inaktiv | 1,0 | } werden 24 ^h zur Präzipitinbildung stehen
gelassen: nach 24 ^h wird das Präzipitat
abzentrifugiert, dann Zusatz von: |
| Antiserum aktiv | 1,0 | |
| Seidenpepton 10-proz. Lös. | 0,5 | |
| NaCl-Lösung | 7,5 | |

Zum Vergleiche zeigt das zweite Kurvenbild die Drehungskurven der zu obigen Versuchen verwendeten Sera allein.

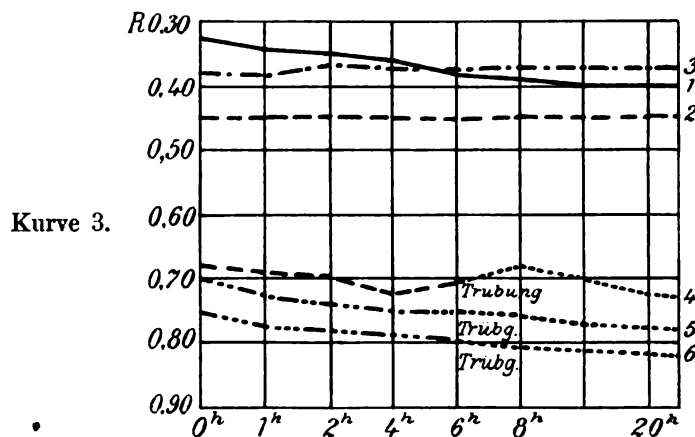


- | | | | |
|----------------------------|-----|----------------------------|-----|
| 1) Pferdeserum inaktiv | 1,0 | 2) Antiserum aktiv | 1,0 |
| Seidenpepton 10-proz. Lös. | 0,5 | Seidenpepton 10-proz. Lös. | 0,5 |
| NaCl-Lösung 0,85-proz. | 8,5 | NaCl-Lösung 0,85-proz. | 8,5 |
| 3) Antiserum inaktiv | 1,0 | | |
| Seidenpeptonlös. 10-proz. | 0,5 | | |
| NaCl-Lösung 0,85-proz. | 8,5 | | |

Wir sehen also, daß sich während des Präzipitationsvorganges selbst eine Drehungsveränderung geltend macht, auch wenn Antikörper und Antigen inaktiviert sind; ja es tritt eine Spaltung der in dem Serumgemisch vorbehandelten

Eiweißkörper selbst bei der Präzipitatbildung auf, wie das Beispiel 3 ergibt, das einen Versuch ohne Zugabe von Peptonlösung darstellt. Ferner ist interessant, daß nach einer völligen Ausfällung des Präzipitates, in dem darüberstehenden Serumgemisch anscheinend noch eine Spur peptolytischer Stoffe vorhanden ist. Eine eingehendere Deutung der Kurven kann zurzeit noch nicht gegeben werden, da uns ebenso wie die Synthese, so der Abbau der beim Versuch verwendeten Eiweißarten unbekannt ist; dies gilt auch von dem Seidenpepton. Was die Erhebung der Kurven 2 und 3 des vorigen Versuches um die 8. Stunde anlangt, so muß bemerkt werden, daß bei Beobachtung der Präzipitation im Polarisationsröhrchen sich während der Ausscheidung des Präzipitates mehr und mehr eine Trübung geltend macht, die die Ablesung sehr erschwert, ja unmöglich machen kann. Bei den eben erwähnten Versuchen begann in der 2. Stunde eine leise Trübung, die sich bis zur 8. Stunde steigerte, jedoch die Ablesung nicht vollkommen unmöglich erscheinen ließ. Nach 20 Stunden war der Niederschlag abgesetzt, bot sich also bei der Ablesung keine weitere Schwierigkeit mehr dar.

Eine Wiederholung der Versuche am 23. IV. ergab ganz ähnliche Resultate. — Am 2. V. wurden alsdann dem Tier, ohne daß es Ueberempfindlichkeitserscheinungen zeigte, wieder inaktives Pferdeserum (15 cm) intraperitoneal verabreicht. Der Präzipitationstiter seines Serums gegen



Pferdeserum war am 14. V. wiederum 1:2000. Zur Beobachtung im Polarisationsapparat gelangten folgende Mischungen, deren Kurven das Bild 3 zeigt.

1) Antiserum aktiv	1,0	4) Antiserum aktiv	1,0
Seidenpeptonlösung 10-proz.	0,5	Pferdeserum inaktiv	1,0
NaCl-Lösung 0,85-proz.	8,5	NaCl-Lösung 0,85-proz.	8,0
2) Antiserum inaktiv	1,0	5) Antiserum aktiv	1,0
Seidenpeptonlösung 10-proz.	0,5	Pferdeserum inaktiv	1,0
NaCl-Lösung 0,85-proz.	8,5	Seidenpeptonlösung 10-proz.	0,5
3) Pferdeserum inaktiv	1,0	NaCl-Lösung 0,85-proz.	7,5
Seidenpeptonlösung 10-proz.	0,5	6) Antiserum inaktiv	1,0
NaCl-Lösung 0,85-proz.	8,5	Pferdeserum inaktiv	1,0
		Seidenpeptonlösung 10-proz.	0,5
		NaCl-Lösung 0,85-proz.	7,5

Am 8. VI. wurde dem Tier Blut entnommen, dessen Serum noch deutlich einen Präzipitintiter von 1:100 aufwies. Mit 0,5 Seidenpeptonlösung zusammengebracht, ergab sich jedoch keine Drehungsänderung der Mischung innerhalb 24 Stunden, ebensowenig mit einer Serumprobe, die von einer Venaesection des Tieres am 14. VI. stammte und nur mehr einen Präzipitintiter von 1:1 besaß.

Es war demnach zu konstatieren, daß 37 Tage nach der letzten Injektion von Eiweiß — obwohl die Bildung von Präzipitin noch nicht aufgehört hatte — das Serum bereits der peptolytischen Fähigkeit ermangelte. Im Gegensatz dazu trat bei einem anderen, nur einmal mit Pferdeserum eingespritzten Kaninchen, nachdem der Präzipitintiter längst wieder auf 0 gesunken war und das Tier aus mir nicht bekannten Gründen stark abmagerte, im Blutserum die Fähigkeit auf, Seidenpepton zu spalten. Es muß aber aus diesem Verhalten bei verschiedenen Tieren geschlossen werden, daß die Bildung peptolytischer Fermente im Blutserum mit dem Auftreten von spezifischem Präzipitin nicht im Zusammenhang steht. Präzipitinbildung bedingt nicht die Bildung peptolytischer Serumstoffe und umgekehrt.

Das Serum des mit Eiereiweiß vorbehandelten Tieres erwies sich zur optischen Untersuchung weniger geeignet, als das der gegen Pferdeserum immunisierten Tiere, weil es ein viel dichteres Präzipitat ausfallen ließ, so daß die Serummischungen auch nach 24 Stunden noch nicht klar waren, ja selbst durch heftiges Zentrifugieren nicht mehr zur Polarisation geeignet wurden. Immerhin sind die Drehungszahlen, soweit sie abgelesen werden konnten, interessant. Es handelt sich um ein Serum¹⁾ mit dem Präzipitintiter 1:10 000. Folgende Tabelle gibt für die jeweiligen Mischungen die Drehungszahlen an:

1) Herrn Oberarzt Laifle danke ich an dieser Stelle nochmals für die Ueberlassung des Serums.

Zeit d. Ablesung	Antiser. aktiv 1,0, Seidenpepton 10-proz. 0,5, NaCl-Lös. 7,5	Antiser. aktiv 1,0, Hüh.-Eiweiß 1,0, NaCl-Lös. 8,0	Antiserum aktiv 1,0, Hüh.-Eiweiß 1,0, Seidenpepton 10-proz. 0,5, NaCl-Lös. 7,5	Antiserum inaktiv 1,0, Hüh.-Eiweiß 1,0, Seidenpepton 10-proz. 0,5, NaCl-Lös. 7,5	Antiser. aktiv 1,0, Hühnereiweiß 1,0, 24 ^h stehen gelassen, dann Präzipitat ab- zentrifugiert; dazu 0,5 Seidenpepton, 7,5 NaCl-Lösung
0	0,70	0,81	0,74	0,80	Die Mischung ist diffus trübe, so daß es nicht mit Sicherheit mög- lich ist, die Dre- hung abzulesen
1	0,71	0,82	0,75 leicht	0,82	
2	0,73	0,85 leicht	0,77 leicht	0,84	
4	0,74	0,83 trübe	0,78 trübe	0,84 leicht tr.	
6	0,76 leicht	fortschreit.	fortschreit.	stark trübe	
8	0,77 trübe	Trübung	Trübung		
20	0,78	?	?	0,86 leicht tr.	

Natürlich wäre es außerordentlich gewagt, auf Grund dieser gezwungenermaßen unvollständigen Kurven mehr über den Präzipitationsvorgang schließen zu wollen, als daß mit der Bildung des Präzipitates in einem oder beiden Komponenten des präzipitierenden Systems Spaltungen auftreten, die möglicherweise einem Abbauprozess gleichkommen.

III. In einer größeren Reihe von Versuchen wurde Serum der optischen Methode unterworfen, das in hohem Grade Agglutinine enthielt. Zu diesen Prüfungen standen wiederholt Sera von einem Antityphus-Kaninchen, einem Antiparatyphus-Kaninchen, einem Antimeningokokken-Kaninchen zur Verfügung, sowie von zwei anderen Tieren, die mit bestimmten Diplokokken des Rachenschleims immunisiert waren. Endlich sei auch noch ein zu Agglutinationszwecken mit Diphtherie immunisiertes Kaninchen erwähnt. Der Titer der Sera war bei allen Tieren — mit Ausnahme des mit Diphtherie vorbehandelten — sehr hoch.

Titer: Antityphusserum 1:5600
 Paratyphusserum 1:1200
 Meningokokkenserum 1:550
 Diplokokkenserum a) 1:350¹⁾
 „ b) 1:600²⁾

Gleichwohl spaltete keines der Sera Seidenpepton, mochte das Agglutinationsphänomen auch noch so schnell und in die Augen springend auftreten. Es scheint also

1) Es handelte sich um ein gramnegatives Bakterium aus dem Rachenschleim.

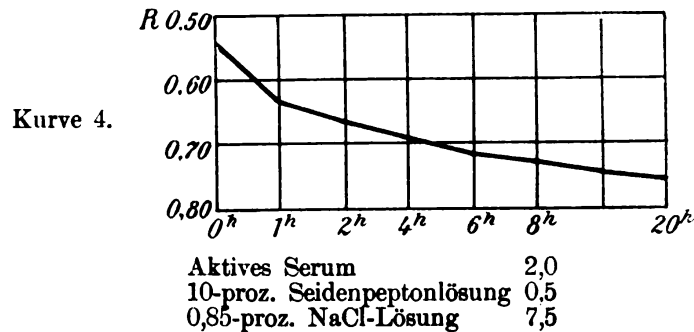
2) Es handelte sich um ein grampositives Bakterium aus dem Rachenschleim. Für die Ueberlassung beider Sera danke ich Herrn Oberarzt Dr. Fürst.

zwischen Agglutininbildung und Auftreten peptolytischer Fermente kein Zusammenhang zu bestehen. Voraussetzung ist natürlich, um peptolytische Eigenschaften eines agglutinierenden Serums auszuschließen, daß man bei der Immunisierung keine Bouillon- oder Gelatine- etc.-Kulturen verwendet, sondern einfache Aufschwemmungen der Bakterien in Kochsalzlösung einspritzt. Andernfalls würde man auf Grund des Nährbodeneiweißes — nicht aber der Bakterien — peptolytische Fermentbildung im Blutserum veranlassen. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, durch große Injektionen eiweißreicher Pilze oder Pilzprodukte das Serum zur Bildung tryptischer Stoffe zu veranlassen; berichtet ja auch Abderhalden über Versuche mit Hefepreßsaft, dessen Injektion merkwürdige peptonverändernde Eigenschaften im Blutserum des Versuchstieres auslöste (17). Aber diejenigen Mengen Antigen, welche genügen, die agglutinierende Fähigkeit des Serums spezifisch zu erhöhen, genügen nicht zur Fermenterzeugung im Serum gegenüber Pepton. Das ließ sich auch an zwei Seren von Typhuskranken bestätigen, von denen eines einen hochvirulenten Typhusstamm bis 1:160, das andere bis 1:320 agglutinierte. Keines der Seren besaß das Vermögen, Seidenpepton anzugreifen. Nebenher sei bemerkt, daß beide Fälle Leukopenie des Blutbildes aufwiesen.

Neuerdings berichten Abderhalden und Pincussohn (22) von weiteren Versuchen mit Pilzen und Pilzprodukten. Während sie im Serum von rotzkranken Tieren keine spaltenden Fermente fanden, scheint es ihnen bei Diphtherie geglückt zu sein. Auch bei dem Höchster Antistreptokokkenserum, bei dem Höchster Tuberkulin und bei der Pyocyanase soll sich ein deutlicher Einfluß auf das ursprüngliche Drehungsvermögen der angewandten Peptide haben feststellen lassen. Jedenfalls ist uns bei einem mit Diphtherie vorsichtig behandelten Kaninchen der Nachweis peptolytischer Serumeigenschaften ebensowenig geglückt, als bei wiederholter Prüfung von Meningitisheilserum aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.

IV. Auf eine ganz andere Fährte wurden wir durch die Beobachtung eines mit Naganatrypanosomen infizierten Kaninchens gebracht.

Das Tier hatte intraperitoneal 2 ccm verdünnten Meerschweinchenblutes erhalten, das reichlichst Trypanosomen enthielt. Obwohl sich im Blut einer Ohrvene nie Trypanosomen finden ließen, erkrankte es alsbald schwer; namentlich machte sich eine hochgradige Conjunctivitis bemerkbar, sowie einige Ulcerationen am Hodensack. 5 Wochen nach der Infektion wies das Blut 65 000 Leukocyten in 1 cmm auf; davon war weitaus die Mehrzahl den polymorphkernigen, pseudoeosinophilen farblosen Blutzellen zuzurechnen. Das Serum des außerordentlich abgematteten und mageren Tieres gab mit Seidenpepton im Polarisationsapparat die nebenstehende Kurve 4.



Zur Kontrolle sei mitgeteilt, daß die Serum-Seidenpepton-Kurve des gleichen Tieres vor der Infektion keine Spaltungsvorgänge bemerkbar ließ.

Es ergab sich also ein auffallend intensiver Abbau des Seidenpeptons durch das Serum dieses Tieres, dem doch nur eine kleine Menge artfremden Blutes parenteral zugeführt worden war, allerdings zusammen mit einem das Kaninchen sehr schädigenden Infektionserreger. Dem Tiere war das Blut entnommen worden zu einer Zeit, als es sehr kachektisch war und mit einer Hyperleukocytose reagierte. Ob einer dieser beiden Zustände am Auftreten der Fermentstoffe im Serum schuld sein konnte?

Tatsächlich ließ sich bei einer Reihe von Hasen, die stark abmagerten, obwohl sie entweder gar nicht mit Eiweißinjektionen vorbehandelt waren, oder obwohl kurz vorher ihr Serum keine peptolytische Wirkung hatte erkennen lassen, eine ähnliche abbauende Serumwirkung gegenüber Seidenpepton erkennen.

Es handelt sich um 4 Kaninchen, von denen eines das oben erwähnte vorher gegen Pferdeserum immunisierte Tier war, dessen Serum zuerst bei noch vorhandenem Präzipitationsvermögen Seidenpepton nicht angriff, später nach aufgehobenem Präzipitationsvermögen und eingetretener starker Abmagerung aber erneut peptolytisch wirkte. — Ein anderes Kaninchen hatte eben Junge geworfen und war deshalb ziemlich mager, als es die Reaktion

zeigte. — Ein drittes war früher als Agglutinationstier gegen Dysenterie benützt worden. Es hatte bronchopneumonische Erscheinungen und nahm sehr ab; sein Serum zeigte stark peptolytische Eigenschaften. — Das vierte Kaninchen war ein mit dem Friedländerschen Pneumoniebacillus vorbehandeltes Weibchen, das in der Immunisierungsperiode 4 Junge warf und während der Säugung außerordentlich zurückging, so daß es von den Jungen schließlich getrennt werden mußte. Nach dem Tode des Tieres, der kurz nach der Blutentnahme eintrat, fand sich keine sichtbare Todesursache. Leukocytenzahl 13500, also innerhalb der Norm. Das Serum baute Seidenpepton auffallend stark ab.

Demnach erschien es wahrscheinlich, daß allgemeine Kachexie bzw. starke Konsumption des eigenen Körpereiwisses im Blutserum peptolytische Substanzen auftreten läßt. Durch die Güte der Herren Assistenten der II. medizinischen Klinik in München und des Herrn Oberstabsarztes Dr. Mandel kam ich in den Besitz von 7 menschlichen Seren, die ebenfalls von Patienten mit starker Herabminderung des Körpergewichtes stammten.

Es handelte sich um zwei protrahierte Phthisen, um zwei schwere Fälle von Diabetes mellitus, um zwei sichere Carcinosen, um ein Sarkom des Beckens.

In allen 7 Seren, die vorsichtig gewonnen und frei von Hämoglobin waren, ließen sich mittels der optischen Methode Stoffe nachweisen, welche Seidenpepton abbauten; am meisten war dies bei den Tumorkranken der Fall, am wenigsten bei den Tuberkulösen. Jedoch stellte sich der Kurvenverlauf nicht so dar, daß man ihn zur Unterscheidung der Krankheiten benutzen könnte. Daß bösartige Tumoren von peptolytischen Stoffen im Serum begleitet sind, fanden schon Abderhalden und Mediceanu (28) bei Studien mit transplantablen Mäuse- und Rattengeschwülsten. In ihrer Arbeit sagen sie: „Vielleicht erklären sich manche Erscheinungen, wie Zurückbleiben der Tiere im Wachstum, Appetitlosigkeit, Vergrößerung der Leber usw., welche bei Trägern maligner Tumoren oft beobachtet werden, aus der Abgabe atypischer Fermente.“ Vielleicht könnte man diesen Satz auch umdrehen! Vielleicht erscheinen diese atypischen Fermente des Blutes gerade deshalb, weil infolge der uns noch rätselhaften Tumorstoffwirkung der Körper mehr oder minder sein eigenes Eiweiß zu verzehren gezwungen ist, ähnlich wie diese Fermente auftreten, wenn man dem Körper zumutet, Eiweiß zu verdauen, das man

ihm mit Umgebung des Darmes einverleibte. Es ist nicht ausgeschlossen, daß wir es hier mit einer ganz allgemeinen Kachexiereaktion zu tun haben, einer Reaktion, welche bei Schädigungen des Körpers verschiedener Art erscheint, um nach Aufhebung der Schädigung wieder zu verschwinden, eine Reaktion, welche nicht Ursache, wohl aber Folge der fortschreitenden Konsumption ist¹⁾.

Ob und welche Beziehungen und Gegensätze zwischen den peptolytischen Fermenten und den antitryptischen Kräften des Serums Kachektischer bestehen, welche Brieger und Trebing namentlich bei Carcinomatösen nachweisen konnten, wird sich erst durch längere Reihen vergleichender Untersuchungen dartun lassen (29 und 30).

Es sei hier bemerkt, daß sich zwischen den Ergebnissen der Wassermannschen Reaktion, die man von mancher Seite ebenfalls als eine bei verschiedenen Krankheiten verschieden stark auftretende Reaktion der Kachexie aufzufassen geneigt ist, und denen der Abderhaldenschen optischen Untersuchung bei einer Reihe von menschlichen Seren durchaus keine Koinzidenz ergab.

Soweit sich bisher die Resultate übersehen lassen, scheint zwischen den Immunstoffen und den peptolytischen Serumkörpern des Blutes keine direkte Beziehung vorhanden zu sein. Gegen diesen Satz spricht die Tatsache nicht, daß mit der Inaktivierung eines hämolytischen Serums auch seine peptolytische Wirksamkeit verloren geht; für diesen Satz spricht aber die Tatsache, daß die fermentative Wirksamkeit des optisch-inaktivierten Serums sich in keinem Falle durch Zugabe frischen Serums wiederherstellen ließ, spricht auch die Tatsache, daß bei verschwundenem peptolytischen Vermögen doch noch die Fähigkeit zu hämolytisieren und präzipitieren nachweisbar ist, ja daß sich im Serum Agglutinine erzeugen lassen ohne eine Spur von peptolytischer Fermentbildung. Eine genügende Erklärung über die Bedingungen für das Auftreten dieser Fermentstoffe, die auch in Fällen von Kachexie angetroffen werden können, vermögen wir bisher nicht zu geben. Das Vorhandensein peptolytischer Stoffe im Serum Kranker als Glied zu einer diagno-

1) Vielleicht kommen auch Entzündungsvorgänge mit starkem Leucocytenzerfall in Betracht als Ursache für das Auftreten peptolytischer Stoffe im Serum. Auch hierüber sind Untersuchungen im Gange.

stischen Kette zu verwerten, muß zurzeit wohl noch als unerlaubt bezeichnet werden. Möglicherweise ist aber die Zeit nicht ferne, in der uns weitere Studien mit dieser außerordentlich variablen Technik in die Geheimnisse des Eiweißabbaues und der Bedingungen, unter denen Organ- und Körperfermente gebildet werden, überzeugende Tatsachen mitteilen. Abderhalden hat ja bereits eine Reihe von Untersuchungen angekündigt, von denen uns namentlich die am Hungernden vorgenommenen als sehr wesentlich zur Klärung darüber erscheinen, welche Bedingungen für das Auftreten peptolytischer Fermente im Blutserum maßgebend sind. Nur sei noch einmal betont, daß für diese Fragen die Methode der Messung der optischen Aktivität im Polarisationsapparat, so aussichtsvoll sie ist, eine Schwäche hat: Die äußerst kleinen Drehungsunterschiede können Fehlablesungen beim Geübtesten veranlassen und dadurch die Analysierung dieser biologischen Probleme erschweren statt erleichtern.

Zusammenfassung.

- 1) Einspritzung von Eiweißstoffen ruft im Blutserum des behandelten Tieres peptolytische Stoffe hervor. Diese Stoffe haben keine Beziehung zum Hämoglobin. In wie weit die Leukocyten und Blutplättchen als Spender peptolytischer Fermente in Betracht kommen, ist noch weiter zu untersuchen.
- 2) Durch Erhitzung von 56—60° kann man die peptolytischen Fermente „inaktivieren“, unwirksam machen. Eine Reaktivierung durch Zugabe frischen Serums gelingt nicht.
- 3) Präzipitine, Hämolysine und Agglutinine treten unabhängig von den peptolytischen Serumstoffen auf und verschwinden aus ihm. Peptolytische Fermentstoffe und Immunstoffe können wohl zeitlich zusammentreffen, sie sind aber verschiedene Stoffe.
- 4) Das Blutserum stark abgemagerter Kaninchen ist reich an peptolytischen Fermentstoffen, wenn die Tiere auch nicht mit Eiweißstoffen, sondern mit Trypanosomen oder überhaupt nicht vorbehandelt wurden.
- 5) Im Blutserum kachektischer Menschen, namentlich solcher, die an Tumoren erkrankt sind, lassen sich peptolytische Stoffe auffinden.

6) Peptolytische Stoffe treten im Blutserum auf, wenn der Organismus ein anderes als das gewöhnliche Nahrungseiweiß verarbeiten muß, sei es, daß ihm Eiweiß parenteral zugeführt wurde, sei es, daß bei konsumierender Erkrankung das Körpereweiß eingerissen wird.

7) Diagnostische Schleime läßt die optische Methode des Nachweises peptolytischer Fermente bei kachektischen Menschen nicht zu.

Literatur.

- 1) Abderhalden und Fischer, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 46.
- 2) — und Teruuchi, ebenda, Bd. 47, p. 466.
- 3) — — ebenda, Bd. 49, p. 1.
- 4) — und Hunker, ebenda, Bd. 48, p. 537.
- 5) — und Rona, ebenda, Bd. 47, p. 259.
- 6) — und Koelber, ebenda, Bd. 51, p. 296.
- 7) — Handbuch der physiol. Chemie.
- 8) — Med. Klinik, 1909, No. 41 u. 46.
- 9) — Sitzungsber. der Physik. Gesellsch. zu Berlin, 29. X. 1909.
- 10) — und Schittenhelm, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 61, p. 422.
- 11) — und Teruuchi, ebenda, Bd. 49, p. 11.
- 12) — und Deetjen, ebenda, Bd. 51, p. 334.
- 13) — — ebenda, Bd. 53, p. 280.
- 14) — und Oppler, ebenda, Bd. 53, p. 294.
- 15) — und Lester, ebenda, Bd. 55, p. 372.
- 16) — und Manwaring, Bd. 55, p. 378.
- 17) — und Pincussohn, ebenda, Bd. 61, p. 200.
- 18) — — ebenda, Bd. 64, p. 434.
- 19) — und Weichardt, ebenda, Bd. 62, p. 122.
- 20) — und Pincussohn, ebenda, Bd. 62, p. 243.
- 21) — — ebenda, Bd. 64, p. 102.
- 22) — — ebenda, Bd. 66, p. 88.
- 23) Schneider, R., Archiv für Hygiene, Bd. 70, p. 78.
- 24) Gruber und Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907, No. 6.
- 25) — — Deutsche med. Wochenschr., 1907, No. 39.
- 26) Müller und Jochmann, Münch. med. Wochenschr., 1906, No. 31.
- 27) Fornet, Zeitschr. f. biolog. Technik u. Methodik, Bd. 1.
- 27a) Bonhoff und Tsuzuki, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, p. 180.
- 28) Abderhalden und Mediereceanu, Hoppe-Seylers Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 66, p. 265.
- 29) Brieger und Trebing, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 22.
- 30) — — ebenda, 1908, No. 51.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geheimer Ober-Medizinalrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Beiträge zur Kenntnis der komplexen Konstitution der Komplemente.

Von Prof. H. Sachs und Dr. G. Bolkowska.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. Juli 1910.)

Unter den Fortschritten, welche unsere Kenntnis von den Komplementen in letzter Zeit zu verzeichnen hatte, beansprucht wohl das größte Interesse die Feststellung der Tatsache, daß die Komplemente durch das Zusammenwirken zweier Komponenten ihre Wirkung entfalten. Bekanntlich hat Ferrata¹⁾ unter Morgenroths Leitung gezeigt, daß man bei der Dialyse des Meerschweinchenserums durch Isolierung des ausfallenden Globulinniederschlags und des gelöst bleibenden Anteils zwei Bestandteile erhält, welche an und für sich unwirksam sind, aber in salzhaltiger Lösung sich zum wirksamen Komplement vereinigen. Brand²⁾ konnte diese Feststellung bestätigen und zugleich den Nachweis erbringen, daß jede der beiden Komponenten thermischen Einflüssen gegenüber ebenso labil ist, wie das im nativen Serum befindliche Komplement. Durch eine Analyse der Beziehungen der einzelnen Teilstücke zu den ambozeptorbeladenen Blutzellen klärte Brand ferner den Wirkungsmechanismus dahin auf, daß die im Sediment enthaltene Komponente von der ambozeptorbeladenen Blutzelle gebunden wird, während das wirksame Prinzip des Abgusses erst nach vorheriger Verankerung des Sedimentteils gebunden wird und damit zur Wirkung gelangt. Auf Grund dieser Feststellungen stand nichts im Wege, die Beziehungen zwischen Ambozeptor und den beiden Teilstücken in analoger Weise aufzufassen, wie diejenigen zwischen Zelle, Ambozeptor und Komplement nach

1) A. Ferrata, Berliner klin. Wochenschr., 1907, No. 13.

2) E. Brand, Berliner klin. Wochenschr., 1907, No. 34.

der von Ehrlich und Morgenroth inaugurierten Betrachtungsweise. Demzufolge wird nach dem Vorgange von Brand die im Globulinniederschlag befindliche Komponente als „Mittelstück“, die im Abguß befindliche als „Endstück“ bezeichnet. Später konnte Hecker¹⁾ zeigen, daß zwar das Mittelstück von den ambozeptorbeladenen Blutzellen auch bei 0° gebunden wird, daß dagegen die Verankerung des Endstücks an den Komplex „Zelle-Ambozeptor-Mittelstück“ in der Kälte ausbleibt.

Die vorliegenden Untersuchungen betreffen nun die bereits von Hecker gestreifte Frage, wie sich das Komplement des nativen Serums bei 0° verhält. War zwar diese Frage durch die grundlegenden Untersuchungen Ehrlichs und Morgenroths²⁾ bereits dahin beantwortet worden, daß bei 0° nur der Ambozeptor, nicht das Komplement gebunden wird, so schien doch eine detaillierte Analyse auf Grund der neuen Versuchsbefunde nunmehr geboten.

Wir benutzten Rinderblut, das mit einem vom Kaninchen gewonnenen Immunambozeptor beladen wurde, und als Komplement Meerschweinchenserum. Die Ambozeptoreinheit des verwendeten Ambozeptors betrug für 1 ccm der 5-proz. Blutaufschwemmung unter Verwendung von 0,1 ccm Meerschweinchenserum: 0,0015 ccm. Da sich nach einigen Vorversuchen herausstellte, daß das Versuchsergebnis wesentlich von der Ambozeptormenge abhängt, wurden Blutkörperchen in verschiedenem Grade mit Ambozeptor beladen. Die zur Vorbehandlung des Blutes dienende Ambozeptormenge betrug pro 1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung in:

Versuch	A:	0,002	ccm
	B:	0,004	„
	C:	0,008	„
	D:	0,015	„
	E:	0,03	„

Im einzelnen gestaltete sich die Versuchsanordnung folgendermaßen:

In je zwei Parallelreihen (a und b) wurden absteigende Mengen Meerschweinchenserums mit je 1 ccm 5-proz. Aufschwemmung von ambozeptorbeladenem Blut 1½ Stunden bei 0° digeriert. Nach dem Zentrifugieren wurden je 4 Versuchsreihen angesetzt.

In Reihe I wurden die Abgüsse der Reihe a mit den Sedimenten von je 1 ccm 5-proz. Blut, das in gleicher Weise mit Ambozeptor vorbehandelt war, digeriert;

1) R. Hecker, Arbeiten aus dem Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M., 1907, Heft 3.

2) cf. hierzu: P. Ehrlich, Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung, Berlin 1904.

in Reihe II wurden die Abgüsse der Reihe b mit den Sedimenten der Reihe a digeriert;

in Reihe III wurden die Sedimente der Reihe b in 1,75 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschüttelt;

in Reihe IV (Kontrolle) wurde die komplettierende Wirkung des Meerschweinchenserums durch Digerieren absteigender Mengen mit je 1 ccm 5-proz. ambozeptorbeladenen Blutes ermittelt.

Die Röhrchen blieben 2 Stunden bei 37°. Das ermittelte Endresultat ist in Tabelle I notiert.

Tabelle I.

Mengen des Meerschweinchen- serums ccm	Eingetretene Hämolyse in Reihe			
	I	II	III	IV

A.				
0,002 ccm Ambozeptor.				
0,05	komplett	komplett	0	komplett
0,025	stark	stark	0	fast komplett
0,015			0	stark
0,01	mäßig	mäßig	0	"
0,005	wenig	wenig	0	wenig
0,0025	0	0	0	Spürchen

B.				
0,004 ccm Ambozeptor.				
0,05	komplett	komplett	0	komplett
0,025	"	"	0	"
0,015	stark	fast komplett	0	fast komplett
0,01	"	stark	0	stark
0,005	wenig	wenig	0	mäßig
0,0025	0	Spürchen	0	wenig

C.				
0,008 ccm Ambozeptor.				
0,05	komplett	komplett	Spürchen	komplett
0,025	stark	"	"	"
0,015	mäßig	"	0	"
0,01	wenig	fast komplett	0	fast komplett
0,005	0	mäßig	0	mäßig
0,0025	0	Spürchen	0	wenig

D.				
0,015 ccm Ambozeptor.				
0,05	komplett	komplett	Spürchen	komplett
0,025	mäßig	"	0	"
0,015	Spur	"	0	"
0,01	"	stark	0	fast komplett
0,005	Spürchen	wenig	0	mäßig
0,0025	0	Spürchen	0	wenig

Mengen des Meerschweinchen- serums ccm	Eingetretene Hämolyse in Reihe			
	I	II	III	IV

E.

0,03 ccm Ambozeptor.

0,05	mäßig	komplett	wenig	komplett
0,025	Spur	"	Spur	"
0,015	Spürchen	"	"	"
0,01	"	"	Spürchen	"
0,005	0	fast komplett	0	fast komplett
0,0025	0	mäßig	0	mäßig

Zum Verständnis der vorstehend mitgeteilten Protokolle müssen besonders die Reihen I und II berücksichtigt werden. Sie enthalten beide die Abgüsse des Meerschweinchenserums, das in der Kälte mit ambozeptorbeladenem Blut digeriert war, unterscheiden sich aber dadurch, daß die Einwirkung in Reihe I auf natives ambozeptorbeladenes Blut erfolgt, in Reihe II dagegen auf solches, das bereits in der Kälte mit Meerschweinchenserum vorbehandelt war. Würde Komplement in der Kälte von dem ambozeptorbeladenen Blut nicht gebunden werden, so müßten naturgemäß beide Reihen den gleichen Grad von Hämolyse aufweisen. Dies trifft auch in der Tat für den Versuch A mit 0,002 ccm Ambozeptor vollständig und für den Versuch B mit 0,004 ccm Ambozeptor fast vollständig zu.

Wir finden also bei der Vorbehandlung des Blutes mit relativ geringen Ambozeptormengen die von Ehrlich und Morgenroth festgestellte Tatsache, daß das Komplement bei 0° nicht gebunden wird, durchaus bestätigt. Die Verhältnisse ändern sich aber bei Steigerung der Ambozeptormenge. Das schon im Versuche B angedeutete Verhalten findet in C bis E bei Verwendung von 0,008—0,015—0,03 ccm Ambozeptor einen prägnanten Ausdruck. Hier differieren die Reihen I und II ganz erheblich, indem der Abguß auf ambozeptorbeladenes Blut viel schwächer hämolytisch wirkt, als auf solches, das bereits mit Meerschweinchenserum in der Kälte digeriert war. Es wäre aber irrig, aus dem recht großen Verlust des

Abgusses an aktivierender Kraft auf eine Bindung des Komplementes in der Kälte zu schließen. Wäre dem so, dann müßten sich die mit Meerschweinchenserum in der Kälte vorbehandelten Blutsedimente in der Wärme auflösen. Die Reihen III zeigen aber, daß das nicht der Fall ist. Wohl ist in den ersten Gliedern dieser Reihen eine geringgradige Hämolyse wahrzunehmen, dieselbe dürfte aber darauf zurückgeführt werden können, daß Spuren von Komplement noch den Sedimenten adhäreren, und daß eine gewisse Erwärmung bei den Manipulationen der Trennung von Blutsediment und Abguß nur schwer zu vermeiden ist. Jedenfalls kann der schwache Grad der in den Reihen III eingetretenen Hämolyse den aus den Reihen I ersichtlichen Funktionsverlust nicht entfernt erklären. Dagegen zeigt sich, daß durch die Einwirkung der Abgüsse auf die vorbehandelten Sedimente nahezu der gleiche Grad der Hämolyse erreicht wird, welcher nach den Kontrollen IV zu erwarten ist. Es ergibt sich also der Schluß, daß das Komplement bei dem geübten Vorgehen in zwei Komponenten zerfällt, von denen die eine von den ambozeptorbeladenen Blutzellen gebunden wird, während die andere in dem Abgusse zurückbleibt.

Die Antwort auf die eingangs gestellte Frage muß also dahin formuliert werden, daß das Komplement bei geringer Ambozeptormenge von ambozeptorbeladenem Blut in der Kälte nicht gebunden wird, daß dagegen bei vermehrter Ambozeptormenge die eine Komponente des Komplements sich in der Kälte verankert, die andere aber in Lösung bleibt.

Der von uns eingeschlagene Weg bietet also gleichzeitig ein neues, weiteres Verfahren zum Nachweis der komplexen Konstitution der Komplemente, das methodisch etwa der neuerdings von Michaelis und Skwirsky¹⁾ demonstrierten Tatsache der isolierten Bindung des Mittelstücks bei saurer Reaktion entspricht.

1) L. Michaelis und P. Skwirsky, diese Zeitschrift, Bd. 4, 1910, p. 629.

Nach Abschluß unserer Untersuchungen¹⁾ erschien eine Arbeit von Haendel²⁾ [cfr. auch Neufeld und Haendel³⁾], der unabhängig zu der Bearbeitung der analogen Fragestellung gelangt war. Die Versuchsergebnisse Haendels decken sich mit den unsrigen insoweit, als auch Haendel zu der Schlußfolgerung gelangt, daß das Ausbleiben der Komplementbindung an ambozeptorbeladene Blutkörperchen bei 0° nicht gesetzmäßig erfolgt. Andererseits sah aber Haendel in vielen Fällen bereits bei 0° Hämolyse eintreten, so daß er schließt, daß auch bei 0° eine Verankerung des gesamten Komplements stattfinden kann; freilich handelte es sich dabei um recht hohe Ambozeptordosen. In einer weiteren Reihe von Fällen blieb aber auch in den Haendelschen Versuchen die Hämolyse bei 0° aus, während die nach dem Zentrifugieren erhaltenen Abgüsse ihre Komplementwirkung verloren hatten. In dieser Hinsicht würde also das Ergebnis mit dem unsrigen übereinstimmen, wenn man annimmt, daß das Mittelstück auch in den Haendelschen Versuchen in der Kälte isoliert gebunden war. Aber die Analyse der Blutsedimente ergab nicht ganz eindeutige Resultate. Die Sedimente lösten sich nämlich auch dann nicht, wenn ihnen Ambozeptor und Komplement von neuem zugefügt wurde. Haendel macht daher die durch das von ihm benutzte Immunsrum besonders stark erfolgende Agglutination der Blutkörperchen verantwortlich. Wenn es nun Haendel gelang, die Hämolyse der Sedimente durch starkes Schütteln zu erzielen, so wird man einerseits zu berücksichtigen haben, daß es sich in dem angeführten Protokoll augenscheinlich um sehr hohe Ambozeptordosen handelte, und andererseits daran denken müssen, daß die Hämolyse vielleicht nicht durch Komplementwirkung, sondern bereits durch das mechanische Moment des Schüttelns der agglutinierten Blutkörperchen veranlaßt war. In anderen Fällen trat aber auch in den Versuchen Haendels trotz Schüttelns der Blutsedimente die Hämolyse nicht auf. Es erscheint uns nach unseren Erfahrungen nicht notwendig, dafür eine Komplementbindung durch besondere „Bordetsche Antikörper“ verantwortlich zu machen. Vielmehr dürfte die Erklärungsmöglichkeit, welche sich aus unseren Versuchen ergibt und an die auch Haendel gedacht hat, wohl zu einer befriedigenden Konzeption der Erscheinungen führen; nur wird man nach den Versuchen Haendels zu berücksichtigen haben, daß bei großem Ambozeptor- und Komplementgehalt unter Umständen auch das Endstück bereits bei 0° mehr oder weniger zur Wirkung gelangen kann.

1) Die Publikation der vorliegenden Untersuchungen ist durch äußere Ursachen verzögert worden; über ihre Ergebnisse ist bereits durch den einen von uns (S.) auf der 2. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie (cfr. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 42, 1908, Beiheft) kurz berichtet worden.

2) Haendel, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28, 1908, Heft 3.

3) F. Neufeld und Haendel, ebenda, Bd. 28, 1908, Heft 1.

Aus den von uns erhobenen Befunden ergibt sich auch eine einfache Methode zur Herstellung von „persensibilisiertem“ Blut, ähnlich derjenigen, die jüngst von Michaelis und Skwirsky (l. c.) mittels der Trennung durch saure Reaktion aufgefunden wurde. Die in der Kälte mit Meerschweinchen-serum digerierten, in geeigneter Weise sensibilisierten Blutkörperchen müssen sich natürlich als persensibilisiert, wie es Michaelis und Skwirsky nennen, erweisen, d. h. sich bereits bei Zusatz der Endstückkomponente des Komplements lösen. Daß dem so ist, zeigt der folgende Versuch:

In drei Parallelreihen wurden absteigende Mengen von Meerschweinchen-serum mit je 1 ccm sensibilisierten Rinderblutes (0,015 ccm Ambozeptor = 10 Ambozeptoreinheiten) 1½ Stunden bei 0° digeriert. Sodann wurden die Röhrchen zentrifugiert und die Sedimente aufgeschwemmt:

in Reihe A in physiologischer Kochsalzlösung,

in Reihe B in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,03 ccm Endstück,

in Reihe C unter Zusatz von je 0,03 ccm Mittelstück.

Endstück und Mittelstück waren in üblicher Weise durch Dialyse aus Meerschweinchen-serum gewonnen. Die geeigneten Dosen wurden durch vorherige Titration der beiden Komponenten und ihrer Mischung ermittelt. Die Kontrollreihe C mit Zusatz des Mittelstücks wurde deshalb ausgeführt, weil bei der Dialyse eine vollkommene Trennung der beiden Komponenten nur selten gelingt und daher die Möglichkeit einer auf Summationswirkungen beruhenden Hämolyse von vornherein nicht ganz auszuschließen war.

Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Mengen des Meersch.-Serums ccm	Eingetretene Hämolyse in		
	Reihe A	Reihe B	Reihe C
0,05	mäßig	komplett	mäßig
0,025	Spürchen	„	Spur
0,015	0	„	Spürchen
0,01	0	„	„
0,005	0	„	„
0,0025	0	fast komplett	„
0	0	0	„

Wie die Tabelle zeigt, gelingt es ohne Schwierigkeit, durch Digerieren sensibilisierter Blutkörperchen mit komplementhaltigem Serum bei 0° die Blutkörperchen derart zu verändern, daß sie gleichzeitig mit Ambozeptor und Mittelstück beladen sind, also, um den von Michaelis und Skwirsky gebrauchten Ausdruck zu verwenden, „persensi-

bilisiert“ erscheinen. Es sei dabei bemerkt, daß die Blutkörperchen sich bei diesem Vorgang oftmals auch dann sensibilisiert erwiesen, wenn die Ambozeptormenge so gering war, daß eine Abnahme der Komplementwirkung nach dem Digerieren bei 0° nicht nachweisbar war. Man wird für derartige Fälle zur Erklärung wohl annehmen dürfen, daß das Serum einen Ueberschuß an der das Mittelstück darstellenden Fraktion enthielt¹⁾.

Wie man sich die in der Kälte erfolgende isolierte Bindung des Mittelstücks vorzustellen hat, soll hier nicht näher erörtert werden. Wenn man derjenigen Betrachtungsweise folgt, nach der Mittelstück und Endstück im aktiven Serum zum wirksamen Komplement vereinigt sind, so wird man wohl lockere Beziehungen zwischen beiden Komponenten annehmen müssen, ähnlich wie sie von Ehrlich und Morgenroth für die Beziehungen zwischen Ambozeptor und Komplement formuliert wurden.

Anhangsweise sei es gestattet, noch kurz über einige Untersuchungen zu berichten, welche die von Sachs und Teruuchi²⁾ beschriebene Inaktivierung der Komplemente im salzfreien Medium betreffen. Nach diesen Autoren wird bekanntlich Meerschweinchenserum durch Verdünnen mit etwa 8—9 Teilen Wasser bei 37° derart verändert, daß es nach dem Besalzen Komplementwirkungen nicht mehr ausübt. Es schien nun von Interesse zu sein, festzustellen, ob bei diesem Vorgang das gesamte Komplement oder nur eine der beiden Komponenten zerstört wird. Die in dieser Richtung vorgenommenen Versuche ergaben aber wechselnde Resultate. Es gelang nämlich in vielen Fällen, die Wirkung des im salzfreien Medium zerstörten Komplements durch isolierten Zusatz von Endstück zu restituieren, in selteneren Fällen aber durch Zusatz von Mittelstück. Besonders überraschend mußte aber die Tatsache erscheinen, daß es nicht selten gelang, das durch die Wasserverdünnung völlig inaktivierte Meerschweinchenserum sowohl durch Zusatz von Mittelstück als auch durch

1) Dementsprechend gelingt nach unseren Erfahrungen eine Verstärkung der Komplementwirkung in der Regel durch Endstück in höherem Maße als durch Mittelstück.

2) H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., 1907, No. 16, 17 und 19.

Endstückzusatz zu restituieren, und zwar ergab sich oftmals in beiden Fällen eine vollkommene Wiederherstellung der Komplementwirkung. Diese Erfahrungen sind analog denjenigen von Jacoby und Schütze¹⁾, welche die Wirkung des durch Schütteln inaktivierten Meerschweinchenserums gleichfalls durch beide Komplementfraktionen wieder herstellen konnten. In unseren Versuchen waren die Ergebnisse, wie erwähnt, recht wechselnd, so daß wir vorläufig nicht in der Lage sind, ein gesetzmäßiges Verhalten des im salzfreien Medium inaktivierten Komplements zu formulieren. Im allgemeinen hatte es den Anschein, als ob der Nachweis von Mittelstück oder beider Komponenten in dem inaktiven Serum häufiger gelingt als der alleinige von Endstück. Weitere Untersuchungen werden hier einsetzen müssen, um diese sehr eigenartigen Verhältnisse dem Verständnisse näher zu bringen.

Zusammenfassung.

1) Beim Digerieren von ambozeptorbeladenen Blutkörperchen mit komplementhaltigem Serum in der Kälte sind die zu beobachtenden Erscheinungen von der Ambozeptormenge abhängig.

2) Bei geringen Ambozeptormengen tritt im Sinne von Ehrlich und Morgenroth in der Kälte eine Trennung zwischen Ambozeptor und Komplement ein.

3) Bei größeren Ambozeptormengen wird in der Kälte das Mittelstück isoliert an die ambozeptorbeladenen Blutzellen verankert; es findet also eine Trennung innerhalb des Komplements zwischen Mittelstück und Endstück statt.

4) Sensibilisierte Blutkörperchen können durch Behandeln mit Meerschweinchenserum in der Kälte persensibilisiert werden.

5) Das durch Aufenthalt im salzfreien Medium inaktivierte Meerschweinchenserum läßt sich gelegentlich durch Endstück, seltener durch Mittelstück, gelegentlich durch beide Komponenten in seiner Wirkung restituieren, enthält also oftmals trotz seiner Unwirksamkeit eine der beiden Komplementkomponenten oder auch beide im larvierten Zustande.

1) M. Jacoby und A. Schütze, diese Zeitschr., Bd. 4, 1910, p. 730.

Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von:

H. Apolant, Frankfurt a. M., V. Babes, Bukarest, O. Ball, Prag, E. F. Bashford, London, E. v. Behring, Marburg, S. Belfanti, Mailand, A. Besredka, Paris, J. Bordet, Brüssel, A. Breinl, Liverpool, L. Brieger, Berlin, A. Calmette, Lille, A. Dieudonné, München, R. Doerr, Wien, M. Dorset, Washington, E. v. Dungern, Heidelberg, P. Ehrlich, Frankfurt a. M., S. Flexner, New York, U. Friedemann, Berlin, P. Frosch, Berlin, G. Gaffky, Berlin, M. von Gruber, München, M. Hahn, München, A. Heffter, Berlin, L. Hektoen, Chicago, M. Jacoby, Berlin, C. O. Jensen, Kopenhagen, S. Kitasato, Tokio, W. Kolle, Bern, W. Kruse, Königsberg i. Pr., K. Landsteiner, Wien, C. Levaditi, Paris, L. von Liebermann, Budapest, F. Loeffler, Greifswald, Th. Madsen, Kopenhagen, C. J. Martin, London, E. Metschnikoff, Paris, L. Michaelis, Berlin, R. Muir, Glasgow, C. Morel, Pavia, P. Th. Müller, Graz, M. Neisser, Frankfurt a. M., F. Neufeld, Berlin, F. Nuttall, Cambridge, R. Ostertag, Berlin, R. Paltauf, Wien, A. Pettersson, Stockholm, R. Pfeiffer, Breslau, E. P. Pick, Wien, P. Römer, Marburg, C. J. Salomonsen, Kopenhagen, A. Schattenfroh, Wien, Cl. Schilling, Berlin, Th. Smith, Boston, G. Sobernheim, Berlin, V. C. Vaughan, Ann Arbor, A. v. Wassermann, Berlin, W. Welehardt, Erlangen, A. Wladimiroff, St. Petersburg, A. E. Wright, London, D. Zabolotny, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER
(Berlin.)

R. KRAUS
(Wien.)

H. SACHS
(Frankfurt a. M.)

P. UHLENHUTH
(Gr.-Lichterfelde-Berlin.)

Stiebenter Band.

Mit 1 Tafel und 31 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1911

